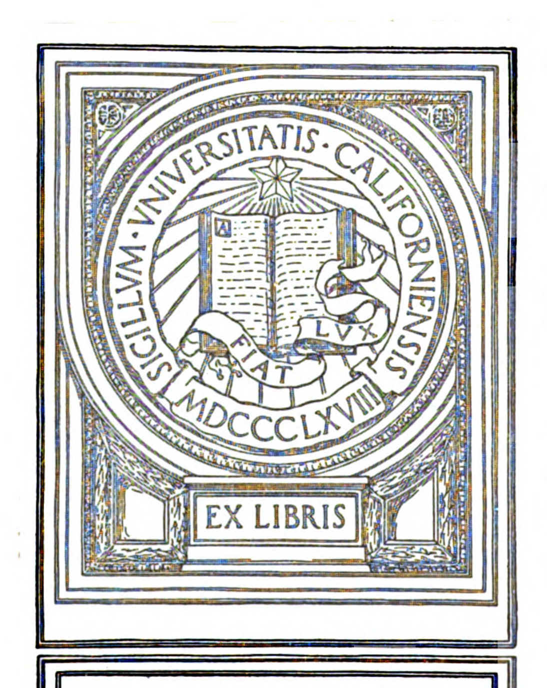
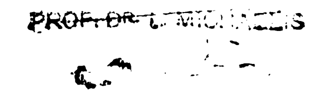

UC-NRLF
$B 650 566


SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



PROF. DR. L. MICHAELIS





Biochemische Zeitschrift.

Herausgegeben von

E. Buchner-Berlin, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

L. Asher-Bern, **J. Bang**-Lund, **P. Bergell**-Berlin, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **Chr. Bohr**-Kopenhagen, **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Berlin, **G. Embden**-Frankfurt a. M., **S. Flexner**-New York, **E. Freund**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Marburg, **M. Jacoby**-Heidelberg, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos-Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. von Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-Berkeley, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P Mayer**-Karlsbad, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **R. Pfeiffer**-Königsberg, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Röhmann**-Breslau, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber** St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **Zd. H. Skraup**-Wien, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **E. H. Starling**-London, **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechster Band.

Mit 1 Tafel.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1907.

Inhaltsverzeichnis.

Das Verhalten der Elektrolyte bei der Mastixfällung.

Von
Leonor Michaelis, Ludwig Pincussohn und Peter Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 6. August 1907.)

Um die kürzlich von uns angegebenen Enteiweißmethoden physiologischen Problemen nutzbar zu machen, ist es nötig, sich zu orientieren, welche von den nicht eiweißartigen Körpern in dem eiweißfreien Filtrat sich wiederfinden und welche nicht. Bezüglich der Albumosen haben wir die entsprechenden Angaben bereits gemacht.[1]) Wir wollen uns nunmehr mit den Elektrolyten beschäftigen. Diese sind es ja, welche im allgemeinen die Mastixsuspension mit besonderer Leichtigkeit zur Flockung bringen, und es fragt sich nun, in welcher Weise sie dabei adsorbiert werden. Wir haben nicht so sehr die Absicht, die Theorie über den Zusammenhang zwischen Flockung und Adsorption weiter auszuarbeiten. Darüber ist wiederholt gearbeitet worden, auch kürzlich eine ausführliche Untersuchung von Freundlich[2]) erschienen; nur an einem Punkte, bei der Flockung durch Säuren, werden wir uns mit der Theorie befassen. Unsere Absicht ist vielmehr hauptsächlich, wie gesagt, eine methodologische.

Wir untersuchten der Reihe nach das Verhalten der Säuren, Basen und Salze.

I. Säuren.

Säuren haben im allgemeinen eine starke flockende Wirkung auf Mastixemulsionen. Sie wirken im allgemeinen in um so geringeren Mengen auf Mastixlösung ausflockend, je stärker sie

---

[1]) Diese Zeitschr. 3, 109 u. 4, 11, 1907.

[2]) Zeitschr. f. angew. Chemie 20, 749; Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide 1, 321.

sind. Es ist daher berechtigt, die ausflockende Wirkung als eine Funktion ihrer elektrolytischen Dissoziation aufzufassen. Für uns handelt es sich nun darum, ob die Säuren in dem Mastixkoagulum adsorbiert enthalten sind, oder ob sie durch ihre bloße Gegenwart wirken, ohne in das Endprodukt der Reaktion, das Mastixkoagulum, einzutreten.

Mastixmilch hergestellt durch Eingießen von 500,0 ccm Wasser in 80,0 ccm 10 prozentiger alkoholischer Mastixlösung.

Es wurden 25 ccm Mastixmilch durch 25 ccm der $^{n}/_{5}$-Schwefelsäure ausgeflockt. Vom Filtrat wurde ein aliquoter Teil mit Lackmoid gegen $n/_{10}$-NaOH titriert.

Es brauchten zur Absättigung 10 ccm Filtrat:

	gefunden	erwartet
a)	9,9 $n/_{10}$-NaOH	10,0,
b)	9,85 $n/_{10}$-NaOH	10,0.

Es ist also höchstens eine ins Bereich der Fehlerquellen fallende Spur von H_2SO_4 adsorbiert worden.

Der Unterschied zwischen der wiedergefundenen und der angewandten Säuremenge fällt also in die Fehlergrenzen. Der Versuch wurde deshalb mit einer $^{1}/_{50}$-n-H_2SO_4 wiederholt.

$n/_{50}$-H_2SO_4 austitriert gegen $n/_{50}$-NaOH mit Kongorot.
Es brauchten:

a) 25,3 H_2SO_4 $n/_{50}$ = 23,7 NaOH $n/_{50}$,
daraus berechnet 1,0 $n/_{50}$-H_2SO_4 = 0,9368 $n/_{50}$-NaOH;

b) 25,7 H_2SO_4 = 24,0 NaOH,
1,0 H_2SO_4 = 0,9334 $n/_{50}$-NaOH.

c) 25,0 H_2SO_4 = 23,3 NaOH,
1,0 H_2SO_4 = 0,9320 $n/_{50}$-NaOH.

d) 27,08 H_2SO_4 = 25,28 NaOH,
1,0 H_2SO_4 = 0,9334 $n/_{50}$-NaOH.

Die gewonnenen Werte zeigen, daß man mit $n/_{50}$-Normallösungen gegen Kongorot noch recht genaue Werte erhält.

Es wurden nun 100 ccm Mastixmilch mit 100 ccm $n/_{50}$-H_2SO_4 ausgefällt.

50 ccm des Filtrats brauchen zur Sättigung

a) 22,85 ccm $n/_{50}$-NaOH,
b) 22,95 ccm $n/_{50}$-NaOH,

gegen die berechnete Menge von 23,3 ccm.

Zur Kontrolle wurden 100 ccm $n/_{50}$-H_2SO_4 mit 100,0 Wasser gemischt und filtriert, um die etwaige Adsorption durch das Filter mit in Betracht zu ziehen.

50 ccm des Filtrates brauchten zur Sättigung 22,6 ccm $n/_{50}$-NaOH; es scheint also etwas Säure durch das Filtrierpapier zurückgehalten zu werden und dies den ganzen scheinbaren Verlust der H_2SO_4 bei der Mastixfällung zu erklären.

Kleine Korrekturen, die man durch Berücksichtigung des durch die Flockung aus der Flüssigkeit verschwindenden Mastixvolums anbringen kann, führen zu noch genauerer Übereinstimmung zwischen zugesetzter und wiedergefundener H_2SO_4, doch ist wohl auch obige Differenz von 0,2—0,3 ccm $^1/_{50}$-n-H_2SO_4 innerhalb der Fehlergrenzen!

Auch hier ergibt sich also kein analytisch nachweisbarer Säureverlust.

Hieraus können wir den Schluß ziehen, daß Säuren bei der durch sie hervorgerufenen Mastixfällung nicht verbraucht werden.

Wenn man eine Mastixsuspension stufenweise mit Wasser verdünnt, so ergibt sich, daß die minimal ausflockende Menge der Säure fast unabhängig von der Dichte der Mastixsuspension ist, nur daß der Flockungsprozeß bei dünnen Lösungen längere Zeit erfordert. Die untere Flockungsgrenze ist, wenn man HCl, H_2SO_4 und CH_3COOH miteinander vergleicht, unabhängig vom Anion und entspricht in allen drei Fällen einer Konzentration von ca. $0{,}5—0{,}7 \times 10^{-5}$ $H^{\cdot}$ im Kubikzentimeter.[1])

II. Basen.

Die Wirkung der Basen ist sehr verschieden. Zunächst gibt es einige, welche auch in relativ geringen Konzentrationen einen ähnlichen Flockungsvorgang hervorrufen wie die starken Säuren; andere rufen in mäßigen Konzentrationen scheinbar keine Zustandsänderung hervor und erzeugen erst bei sehr hoher Konzentration eine Abscheidung des Mastix.

Beginnen wir mit den letzteren. Ihr bester Repräsentant ist die Natronlauge.

Wenn man zu einer Mastixsuspension kleine oder selbst größere Mengen NaOH setzt — etwa bis zum Gesamtgehalt der Flüssigkeit von $^1/_2$-n-NaOH, ein Wert, der je nach der Dichte der Mastixsuspension sehr verschieden ist — so erfolgt keine Ausflockung. Bei noch höherer Konzentration von NaOH bildet

---

[1]) Nach dem Vorschlag von Friedenthal colorimetrisch mit Kongorot als Indicator abgeschätzt.

sich ein Niederschlag, ohne daß sich gewöhnlich die Flüssigkeit ganz klärt. Wenn man diese trübe Flüssigkeit von dem Niederschlag abfiltriert, so zeigt sie eine geringe, aber sicher nachweisbare Verminderung des Natrongehaltes.

50 ccm Mastixmilch gefällt mit 50 ccm NaOH-Lösung.
10 ccm des Filtrates brauchen zur Absättigung:

a) 17,43 ccm $n/_5$-H_2SO_4,
b) 17,47 ccm $n/_5$-H_2SO_4.

Zur Kontrolle wurden 50 ccm der angewandten Natronlauge mit der gleichen Menge Wasser verdünnt und filtriert.
Zur Absättigung brauchen 10 ccm Filtrat:

a) 17,87 ccm $n/_5$-H_2SO_4,
b) 17,85 ccm $n/_5$-H_2SO_4.

Die Differenz entspricht also 0,4 ccm $n/_5$-H_2SO_4, eine weit über die Fehlergrenze der Methodik reichende sichere Differenz.

Anders verhalten sich Erdalkalihydrate. Barythydrat erzeugt in sehr geringen Konzentrationen eine reguläre, gut abfiltrierbare Ausflockung wie die Säuren, aber mit dem Unterschied, daß sich in dem Niederschlag etwas Baryt wiederfindet, das allerdings immer nur einen geringen Bruchteil der angewandten Menge darstellt.

Angewandt eine Barytlösung, von welcher 50 ccm analysiert wurden. In diesen wurde gefunden 0,5465 g $BaSO_4$.

Nunmehr 250 ccm Mastixmilch durch 250 ccm $Ba(OH)_2$-Lösung, die absolut klar und auf einmal hinzugesetzt wurde, ausgeflockt und in einem geschlossenen Gefäß zum Absetzen hingestellt.

50 ccm der klaren überstehenden Flüssigkeit wurden analysiert.

Es fand sich in diesen 0,2610 g $BaSO_4$
gegen 0,2733 g der Theorie;

es ist also eine geringe Menge Barium, entsprechend 0,0123 $BaSO_4$, adsorbiert worden.

Noch anders verhalten sich die kolloidalen Metallhydroxyde. Kolloidales Eisenhydroxyd flockt selbst in Spuren eine Mastixsuspension aus, in einem Überschuß von Eisenhydroxyd geht diese wieder in Lösung. In einer solchen durch Überschuß von Eisenhydroxyd in Lösung gehaltenen Mastixsuspension wandern die Mastixteilchen zusammen mit den Eisenhydroxydteilchen kathodisch, während sonst Mastix an sich anodisch wandert. Die Flockungszone steht in der Mitte zwischen beiden und stellt im Sinne Hardys die isoelektrische Zone dar.

In allen denjenigen Mischungsverhältnissen von Mastix und Eisenhydroxyd, bei denen überhaupt eine Flockung auftritt, betrifft diese stets beide Komponenten quantativ, und das Filtrat enthält weder Mastix noch die geringsten Spuren Eisen.

Angewandt wurde 1 prozentige Lösung von Ferrum oxydatum dialysatum liquidum (Kahlbaum).

Eine Eisenbestimmung wurde nicht ausgeführt, Cl-Bestimmung ergab:

50 ccm entsprechen a) 0,6 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 0,6 ccm n-$AgNO_3$-Lösung.

Es wurden 200 ccm Mastixmilch mit 200 ccm Eisenlösung gefällt. Das Filtrat war absolut klar und farblos, in demselben war mit Rhodan Eisen nicht nachzuweisen, ebensowenig zeigte das Waschwasser Rhodanreaktion. Es war also die gesamte Eisenmenge vom Niederschlag zurückgehalten.

Durch Waschen mit angesäuertem Wasser gelang es, etwas Fe zu lösen, nicht aber durch Waschen mit Ammoniakwasser.

Cl fand sich im Filtrat wieder:

100 ccm verbrauchten a) 0,5 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 0,5 ccm n-$AgNO_3$-Lösung.

Die gleiche Erscheinung der Eisenretention zeigte sich, wenn die kolloidale Lösung mit Mastixmilch in Verhältnissen gemischt wurde, wo spontan eine Ausflockung nicht eintrat und eine solche erst durch $MgSO_4$-Zusatz betätigt wurde.

III. Salze.

a) Alkalilsalze.

1. Chlornatrium.

Als Typus der Alkalisalze wurde zuerst das ClNa untersucht. Die minimal ausflockende Dosis desselben ist erheblich größer als bei den Säuren und variiert außerordentlich mit der Dichte der Mastixsuspension. Wenn man nun eine Mastixsuspension durch ClNa ausflockt, so kann man im Filtrat weder einen Verlust an Cl noch an Na feststellen, und auch der ausgewaschene Mastixniederschlag enthält weder Cl noch Na in irgendwie in Betracht kommender Menge, d. h. nur in solchen Spuren, daß man im Zweifel sein muß, ob es sich um eine wirkliche Adsorption oder um eine Fehlerquelle infolge der Schwierigkeit des Auswaschens handelt.

Nachfolgend ein Beispiel einer Reihe von Ausflockungen durch HCl und NaCl. Es wurde stets die gleiche Mastixmilch angewandt.

Ausflockung von 5 ccm Mastixmilch durch gleiches Volumen Flockungsmittel zeigte sich bei

	HCl-Lösung	NaCl-Lösung
$^1/_2$ normal	+	+
$^1/_4$ "	+	+
$^1/_8$ "	+	+
$^1/_{16}$ "	+	—
$^1/_{32}$ "	+	—
$^1/_{64}$ "	+	—
$^1/_{128}$ "	+	—
$^1/_{256}$ "	+	—
$^1/_{512}$ "	+	—
$^1/_{1024}$ "	—	—

Einfluß der Mastixkonzentration auf die minimal flockende Dosis bei 3stündiger Beobachtungszeit.

Mastixkonzentration	HCl	NaCl
$\frac{1}{1}$[1]	$\frac{n}{256}$ flockt nicht $\frac{n}{128}$ flockt	$\frac{n}{64}$ flockt nicht $\frac{n}{32}$ flockt
$\frac{1}{2}$	$\frac{n}{256}$ flockt nicht $\frac{n}{128}$ flockt	$\frac{n}{32}$ flockt nicht $\frac{n}{16}$ flockt
$\frac{1}{4}$	$\frac{n}{256}$ flockt nicht $\frac{n}{128}$ flockt	$\frac{n}{16}$ flockt nicht $\frac{n}{8}$ flockt
$\frac{1}{8}$	$\frac{n}{256}$ flockt nicht $\frac{n}{128}$ flockt	$\frac{n}{16}$ flockt nicht $\frac{n}{8}$ flockt
$\frac{1}{16}$	$\frac{n}{256}$ flockt nicht $\frac{n}{128}$ flockt (langsam)	$\frac{n}{8}$ flockt nicht $\frac{n}{4}$ flockt
$\frac{1}{\infty}$	$\frac{n}{128}$ flockt zwar nicht in 3 Stunden, aber nach 24 Stunden auch noch.	

[1]) 1 Teil 10prozentiges alkoh. Mastix und 4 Teile Wasser.

Resultat: Die flockende Dosis ist bei HCl unabhängig von der Mastixkonzentration, bei NaCl fast umgekehrt proportional der Mastixkonzentration.

Flockung in 24 Stunden durch Schwefelsäure.
H_2SO_4

Mastix	$\frac{n}{100}$	$\frac{n}{150}$	$\frac{n}{200}$	$\frac{n}{250}$	$\frac{n}{300}$
$\frac{1}{1}$	+	+	+	+ (partiell)	0
$\frac{1}{8}$	+	+ (partiell)	0	0	0

Resultat: Wenn sich die Mastixkonzentrationen wie 1 : 8 verhalten, verhalten sich die minimal flockenden Dosen von H_2SO_4 wie $^1/_{150}$: $^1/_{250}$ oder wie 1,6 : 1; die flockende Dosis der Schwefelsäure ist also nur wenig von der Mastixkonzentration abhängig.

Es wurde eine stärkere Mastixemulsion, hergestellt aus 80 ccm 10 prozentiger alkoh. Mastixlösung und 200 ccm Wasser, angewandt.

Die angewandte NaCl-Lösung war neutral, bei der Cl-Bestimmung brauchten 10 ccm a) 13,6 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 13,65 ccm n-$AgNO_3$-Lösung.

25 ccm Mastixmilch wurden mit 25 ccm NaCl-Lösung geflockt.
20 ccm des Filtrates entsprechen a) 13,6 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 13,7 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,

es war also kein Cl retiniert, aber auch keine negative Adsorption des ClNa. Da die Lösung neutral reagierte, ergab sich, daß auch kein Na zurückgehalten worden war.

Der Niederschlag wurde chlorfrei gewaschen, getrocknet und verascht. Die Bestimmung ergab:

Tiegel + Rückstand	11,4457
Tiegel	11,4456
Asche	0,0001,

so daß sich auch hieraus ergab, daß kein Kochsalz adsorbiert worden war.

Ein zweiter Versuch ergab die gleichen Erscheinungen. Im Filtrat fand sich alles Cl wieder, der Niederschlag wurde in diesem Falle mit H_2SO_4 verascht, um das Na als Sulfat zu bestimmen; es zeigte sich auch hier kein Salzgehalt der Ausflockung.

Ganz im Gegensatz zu den Säuren erfordern dünnere Mastixemulsionen erheblich mehr ClNa zur Ausflockung als dichtere, und zwar besteht innerhalb ziemlich weiter Grenzen annähernd

das Gesetz, daß die minimal ausflockende Menge (wenn man diese auf einmal zugibt) umgekehrt proportional der Mastixdichte ist.

2. Chlorammonium.

Es ergeben sich die gleichen Adsorptionsverhältnisse wie beim Kochsalz, wie die nachstehende Tabelle zeigt.

20 ccm der angewandten Lösung brauchten bei der Kjeldahlbestimmung 21,2 ccm $n/_{10}$-H_2SO_4.

Mit gleichem Volumen Mastixsuspension versetzt, verbrauchten

20 ccm Filtrat	10,8 $n/_{10}$-H_2SO_4,
erwartet	10,6 $n/_{10}$-H_2SO_4.

b) Salze der Erdalkalimetalle und der Erdmetalle.

Die Erdalkalisalze und Erdsalze wirken in viel geringeren Mengen ausflockend als die Alkalisalze. Der Niederschlag kann eine kleine zweifelhafte Menge der Base enthalten, jedoch nichts vom aniontischen Bestandteil des Salzes.

1. Bariumchlorid.

Da die Differenzmethode auch beim Barium einen sicheren Aufschluß nicht gibt, wurde die absolute Bestimmung des Bariums im Niederschlag gewählt.

50 ccm Mastixmilch wurden ausgeflockt mit
50 ccm Bariumchloridlösung.

Der Niederschlag wurde chlorfrei gewaschen, auf Tonteller getrocknet, verbrannt und geglüht.

Der geringe Rückstand enthielt Barium höchstens in Spuren.

2. Aluminium.

Angewandt wurde das Metall als Chlorid und als Alaun.

α) Aluminiumchlorid.

Die Analyse der verwandten Lösung ergab:

25 ccm enthielten 0,0434 g Al_2O_3

nach Stock bestimmt, entsprechend 0,0230 Al.

Zur Cl-Bestimmung wurde verbraucht für 10 ccm:

a) 9,85 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 9,85 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
c) 9,95 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,

woraus sich der Aluminiumgehalt in 25 ccm auf 0,0223 berechnet. 50 ccm der Lösung geben mit 50 ccm Mastixmilch eine gute Flockung.

50 ccm des Filtrates wurden nach Stock analysiert, sie enthielten 0,0423 Al_2O_3 = 0,0224 g Al (erwartet 0,0230 g).

Zur Cl-Bestimmung in 20 ccm wurde verbraucht:

a) 9,85 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
b) 9,95 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
c) 10,0 ccm n-$AgNO_3$-Lösung.

Vom Chlor ist also nichts zurückgehalten, anscheinend dagegen ein geringer Teil des Aluminiums. Zur genauen Bestimmung wurde der Niederschlag zu Chlorfreiheit ausgewaschen, auf Ton getrocknet und verascht. Es fand sich 0,0016 g Asche, die deutlich als Al_2O_3 erkannt wurde.

β) Alaun.

In 25 ccm der Alaunlösung wurde bestimmt 0,0234 g Al_2O_3.

Der Niederschlag aus 50 ccm dieser Lösung und 50 ccm Mastixmilch wurde bis zum Fehlen der H_2SO_4-Reaktion ausgewaschen, auf Ton getrocknet und verascht.

Asche = 0,0008 g, die aber keine deutliche Al-Reaktion gab und hauptsächlich Verunreinigung sein dürfte.

Das Filtrat vom Niederschlag wurde auf Al untersucht.

50 ccm enthielten	0,0240 g Al_2O_3,
erwartet	0,0234 g Al_2O_3.

Eine sichere Adsorption von Aluminium ist also nicht zu konstatieren.

c) Salze der Schwermetalle.

Die Schwermetallsalze verhalten sich in allen Stücken wie Erdalkalisalze, d. h. sie flocken in relativ geringen Mengen, aber ein kleiner Teil des Metalls findet sich stets im Niederschlag wieder. Manche geben die von Bechhold und Friedemann beschriebenen „unregelmäßigen Reihen", d. h. sehr kleine Mengen flocken, größere nicht, noch größere flocken wieder. Auch hier findet sich bei denjenigen Versuchen, in denen Flockung eingetreten ist, etwas Metall im Niederschlag wieder, und zwar eine sehr geringe Menge, welche von der gesamten angewandten Metallsalzmenge nur äußerst wenig abhängig ist.

Auch Silber, Kupfer, Aluminium finden sich in der durch ihre Salze erzeugten Fällung wieder, und zwar absolut genommen um so mehr, je mehr Metallsalz zugegeben wurde, aber relativ zur gesamten zugegebenen Menge um so weniger, je mehr zugegeben wurde — eine sonst für Adsorptionen auch schon bekannte Gesetzmäßigkeit (Biltz, Freundlich u. a.).

Aber immer werden, wenn man Metallsalze zur Flockung benutzt, nur sehr geringe prozentige Anteile des zugegebenen

Metalls adsorbiert, im höchsten Fall bei unseren Versuchen 3%. Es ist daher niemals möglich, das Metall aus seinem Salz durch Mastix zu erschöpfen, im Gegenteil, in analytischer Hinsicht kommt man der Wahrheit ziemlich nahe, wenn man behauptet, bei der Flockung durch Metallsalze ist der in den Niederschlag gehende Teil gegenüber dem nicht gefällten zu vernachlässigen; dies trifft für die Leichtmetalle ganz besonders zu.

1. Eisenchlorid.

Die Bestimmung der angewandten Fe_2Cl_6-Lösung ergab folgende Werte:

20 ccm brauchten 24,35 ccm n-$AgNO_3$-Lösung,
enthielten also 0,0864 g Cl.
In 20 ccm wurde gefunden 0,0659 g Fe_2O_3,
entsprechend 0,0461 g Fe,
(nach Cl-Wert berechnet 0,0455 g Fe).

100 ccm Fe_2Cl_6-Lösung flockten 100 ccm Mastixmilch aus. Der Versuch wurde doppelt ausgeführt.

I. 20 ccm des Filtrates entsprechen 12,15 n-$AgNO_3$-Lösung
(erwartet 12,175).
40 ccm des Filtrates enthielten 0,0658 g Fe_2O_3,
= 0,0461 g Fe,
erwartet 0,0461 g Fe.

Der Niederschlag wurde verascht und geglüht:
Er enthielt 0,0017 g Fe_2O_3,
= 0,0012 g Fe.

II. 20 ccm des Filtrates entsprechen 12,10 n-$AgNO_3$-Lösung.
40 ccm des Filtrates enthielten 0,0654 g Fe_2O_3,
= 0,0458 g Fe,
erwartet 0,0461 g Fe.
Im Niederschlag fand sich 0,0016 g Asche, Fe_2O_3,
= 0,0011 g Fe.

Es wurde also Cl nicht zurückgehalten, dagegen eine geringe Menge Fe, welche nicht nach der Differenzmethode nachweisbar ist, sondern nur durch Veraschung des Niederschlags. Der Eisengehalt des Niederschlags zeigt sich auch durch eine geringe Ockerfarbe.

Der Versuch wurde nochmals wiederholt und der Niederschlag 1 Tag länger ausgewaschen. Die Aschebestimmung des Niederschlages ergab nun 0,0005 g Fe_2O_3 (der Niederschlag war immer noch ein wenig ockerfarben), woraus folgt, daß man durch langes Waschen wenigstens einen Teil des Eisens entfernen kann.

Es wurden nun mit 5 ccm der auf das 10fache verdünnten Eisenchlorid lösung 100 ccm Mastixmilch ausgeflockt. Die Veraschung des Cl frei gewaschenen Niederschlages ergab

$$0{,}0023 \text{ g } Fe_2O_3$$
$$= 0{,}0016 \text{ g Fe},$$

woraus erhellt, daß die angewandte Menge der Elektrolyten für die adsorbierte Menge fast irrelevant ist und die adsorbierte Menge auf jeden Fall minimal ist.

2. Kupfer.

$CuSO_4$-Lösung,

25 ccm enthielten 0,1970 CuO.

100 ccm Lösung mit 100 ccm Mastixmilch versetzt und filtriert.

50 ccm des Filtrates enthielten 0,1934 CuO.

Im ausgewaschenen, bläulich gefärbten, veraschten Niederschlag fanden sich nach Veraschung 0,0058 g CuO.

3. Silber.

$AgNO_3$-Lösung,

25 ccm entsprechen a) 8,2 $n/_{10}$-Rhodanammonlösung,
b) 8,3 „ „
c) 8,2 „ „

100 ccm Mastixmilch mit 100 ccm Ag-Lösung ausgeflockt.

50 ccm des Filtrates entsprechen 7,95 $n/_{10}$ Rhodanlösung. Es scheint also Ag zurückgehalten worden zu sein. Dies wurde bestätigt durch Veraschen des Niederschlages, in welchem 0,0028 g Ag gefunden und als solches identifiziert wurde.

Um festzustellen, ob die retinierten Metallmengen vielleicht mit dem Äquivalentgewicht des angewandten Elektrolyten in Zusammenhang stehen, wurde bei je einem Salz von Al, Cu, Ag eine $n/_{10}$-Lösung hergestellt und mit dieser Lösung die Fällungsgrenze gegen eine bestimmte Mastixmilch ermittelt. Sodann wurde eine Ausflockung mit etwas mehr als der gefundenen Minimalmenge, eine zweite mit der 4fachen Menge bewirkt.

Es wurden angewandt:

$n/_{10}$-Aluminiumchloridlösung,
$n/_{10}$-Kupfersulfatlösung,
$n/_{10}$-Silbernitratlösung.

Es wurde 10 ccm Mastixmilch geflockt durch 0,1 ccm Al-Lösung,
0,2 ccm Cu-Lösung,
0,5 ccm Ag-Lösung.

α) Aluminium.

a) 500 Mastixmilch geflockt mit 10 ccm Aluminiumchloridlösung.
Der gewaschene, verbrannte und geglühte Niederschlag enthielt

$$0{,}014 \ Al_2O_3$$
$$= 0{,}006 \text{ Al}.$$

b) 500 ccm Mastixmilch geflockt mit 40 ccm Aluminiumchloridlösung. Der gewaschene, getrocknete und geglühte Niederschlag enthielt:

$$0{,}0226\ Al_2O_3$$
$$= 0{,}0119\ Al.$$

β) Kupfer.

a) 500 ccm Mastixmilch gefällt mit 20 ccm Kupfersulfatlösung. Der Niederschlag enthielt 0,0104 CuO
= 0,0083 Cu.

b) 500 ccm Mastixmilch geflockt mit 80 ccm Kupferlösung. Der Niederschlag enthielt 0,0160 CuO
= 0,0127 Cu.

γ) Silber.

a) 500 ccm Mastixmilch geflockt mit 50 ccm Silbernitratlösung. Der getrocknete und verbrannte Niederschlag enthielt
0,0135 g Ag.

b) 500 ccm Mastixmilch geflockt mit 200 ccm Silbernitratlösung. Der Niederschlag enthielt 0,0210 g Ag.

Diese Versuche zeigen (zum Teil schon bekannte Tatsachen):

1. Zwischen Äquivalentgewicht und Menge des adsorbierten Metalls besteht keine Proportionalität.

2. Die Menge des adsorbierten Metalls ist kaum abhängig von der Menge des angewandten Elektrolyten, aber stark abhängig von der Menge der Mastixmilch.

3. Es wird nur ein sehr geringer Teil des angewandten Elektrolyten zurückgehalten.

IV. Verschiedene Substanzen.

Wir fügen noch die Resultate für einige biologisch interessante Körper an.

a) Harnstoff.

In der angewandten Lösung wurde nach Kjeldahl der Stickstoff bestimmt.

25 ccm entsprechen 32,0 $n/_{10}$-H_2SO_4.

100 ccm dieser Lösung und 100 ccm Mastixmilch wurden durch Zusatz von etwas Schwefelsäure ausgeflockt.

25 ccm des Filtrates wurden analysiert. Sie entsprechen

16,0 $n/_{10}$-H_2SO_4,
erwartet 16,0 $n/_{10}$-H_2SO_4.

Es ist also vom Niederschlag kein Harnstoff adsorbiert worden.

Ein weiterer Versuch ergab: 20 ccm des Filtrats verbrauchten
16,2 $n/_{10}$-H_2SO_4,
erwartet 16,15 $n/_{10}$-H_2SO_4.

b) Glykokoll.

50 ccm der angewandten Lösung entsprechen (Kjeldahl)
31,0 ccm $n/_{10}$-H_2SO_4.

100 ccm dieser Lösung und 100 ccm Mastixmilch durch Zusatz von etwas H_2SO_4 ausgeflockt.

50 ccm des Filtrats entsprechen 15,0 $n/_{10}$-H_2SO_4.
(ber. 15,5)

c) Hippursäure.

20 ccm der Lösung verbrauchten 5,8 $n/_{10}$-H_2SO_4 (Kjeldahl).
Nach Fällung mit gleichem Volumen
Mastix verbrauchten 20 ccm 3,0 $n/_{10}$-H_2SO_4,
erwartet 2,9 $n/_{10}$-H_2SO_4.

Übersehen wir diese Tatsachen, so können wir zunächst zwei Haupttatsachen herausfinden: Es gibt Flockungsmittel, welche in einer für die chemische Analyse nachweisbaren Menge nicht in den Niederschlag eingehen; es gibt andere, die stets quantitativ mitgerissen werden; dazwischen stehen diejenigen, bei denen eine Spaltung des Fällungsmittels eintritt in dem Sinne, daß von der basischen Komponente des fällenden Mittels ein (meist kleiner) Teil in den Niederschlag geht. Von diesem Gesichtspunkt aus verhalten sich die von uns angewandten Fällungsmittel folgendermaßen:

1. Gar nichts adsorbiert

wurde von HCl, H_2SO_4, NaCl, NH_4Cl. Diese Stoffe wirken also, ohne in das Reaktionsprodukt einzutreten, durch ihre bloße Anwesenheit. Die Art einer solchen Wirkung ist schon vielfach diskutiert und fällt wohl in die Rubrik der physikalischen Zustandsänderung. Offenbar beseitigen solche Flockungsmittel einfach diejenigen physikalischen Ursachen, welche in reinem Wasser die Mastixteilchen in Suspension halten, das sind die elektrostatischen Kräfte, welche nach der Bredigschen Vorstellung das zusammenflockende Bestreben der Oberflächenspannung kompensieren. Wir brauchen also nur mit Bredig anzunehmen, daß Mastix, welcher bekanntlich gegenüber reinem Wasser nachweislich eine negative Ladung annimmt, durch HCl u. dgl. entladen wird, um die Wirkung dieser Mittel zunächst zu verstehen. Zu untersuchen wäre nur noch, warum diese Entladung eintritt.

Über die entladende Wirkung der Säuren gegenüber Mastix können wir uns folgende Vorstellung machen. Wir betrachten den Mastix als eine in Wasser unlösliche Säure. Mastix hat daher das Bestreben, H-Ionen ins Wasser zu entsenden; wägbare Mengen H-Ionen entsendet er nur deshalb nicht ins Wasser, weil das dabei entstehende Kation, der Mastixsäurerest, nicht im Wasser löslich ist und die H-Ionen sich infolge der elektrostatischen Kräfte nicht weit von dem Mastixsäurerest entfernen können. So können wir, wie auch Billitzer schon ausgeführt hat, nur von einer Dissoziationstension des Mastix sprechen, ebenso wie Nernst von einer Lösungstension der Metalle spricht.

Diese Dissoziationstension ist die Ursache für die Ladung der Mastixteilchen. Durch Zusatz einer starken Säure wird nun nach allgemeinen Gesetzen diese Dissoziationsspannung des Mastix herabgesetzt, das bedeutet im Sinne unserer Auffassung: Die Mastixteilchen „entladen“ sich.

Diese Theorie erklärt nun die ausflockende Wirkung der Säuren befriedigend. Schwierigkeiten macht nur noch die Erklärung der flockenden Wirkung der Neutralsalze. Wenn wir beweisen könnten, daß auch durch Neutralsalze die elektrolytische Dissoziation beliebiger schwacher, nicht nur gleichirniger Säuren herabgedrückt wird, dann könnten wir die obige, über die flockende Wirkung der Säuren entwickelte Anschauung einfach auf die Wirkung der Neutralsalze übertragen.

Sehr leicht kann man sich von einer Berechtigung dieser Annahme durch folgenden Versuch überzeugen. Wenn man eine sehr schwache Essigsäure oder $\frac{n}{300}$-Schwefelsäure, die Kongorot violett färbt, mit reichlich NaCl versetzt, so schlägt die Farbe stark nach rot um. Ohne also auf die physikalisch-chemischen Ursachen dieser Erscheinung näher eingehen, können wir sagen, daß erfahrungsgemäß die Dissoziation einer schwachen Säure auch durch nicht gleich-ionige Neutralsalze bei genügender Konzentration derselben herabgedrückt wird.

2. Zum Teil adsorbiert

wurden die Schwermetallsalze, und zwar von ihnen nur die basische Komponente. Hier mag als Ursache der zur Flockung führenden Entladung zu den erörterten Ursachen noch der Um-

stand hinzukommen, daß an der Oberfläche eines jeden Mastixkörnchens eine Schicht Mastixmetallverbindung sich bildet, deren elektrolytische Dissoziationstension geringer ist als die des freien Mastix.

3. Völlig adsorbiert

wurden kolloidale Metalloxyde. Diese Erscheinung fällt in die von Hardy zuerst beobachtete Flockung durch entgegengesetzt geladene Kolloide. Auch hier ist die eigentliche Ursache eine Entladung, indem der Komplex Mastix-Eisenoxyd sich elektrisch neutral verhält.

Es bleibt nun noch die Frage zu erörtern, wie die nicht kolloidalen Nichtelektrolyte oder sehr schlechte Elektrolyte sich gegen Mastix verhalten. Ihnen gemeinsam ist, daß sie an sich keine Ausflockung der Mastixsuspension hervorrufen. Man muß aber untersuchen, wie sie sich verhalten, wenn die Flockung des Mastix bei Gegenwart solcher Nichtelektrolyte durch Elektrolyte hervorgerufen wird. Wir wählten zu diesen Untersuchungen vorläufig Traubenzucker, Harnstoff, Glykokoll und Hippursäure. Einige dieser Körper ist zwar nicht eigentlich als Non-Elektrolyte zu bezeichnen, wird aber in wässeriger Lösung so schwach elektrolytisch dissoziiert, daß sie keine Flockung erzeugen.

Die Versuche mit Traubenzucker wurden polarimetrisch ausgeführt. Sie ergaben bei verschiedenen Mengenverhältnissen, daß kein Zucker vom Mastix zurückgehalten wird; ebenso wurde kein Harnstoff, kein Glykokoll, keine Hippursäure zurückgehalten.

Hiermit berühren wir aber das Gebiet derjenigen Körper, die für die physiologische Chemie in speziellem Maße von Interesse sind. Diese erfordern eine eigene Untersuchung.

Wir können also zusammenfassend für unsere Methode folgende Gesichtspunkte aus obigen Analysen herausgreifen:

Bei neutraler oder saurer Reaktion (wie sie für die Enteiweißung in Betracht kommt) werden Säuren und Neutralsalze der Alkalien und Erdalkalien nicht vom Mastixkoagulum mitgerissen; die Schwermetallsalze geben einen sehr kleinen Bruchteil des Metalloxyds an den Niederschlag ab, aber nicht des sauren Anteils.

Dagegen werden kolloidale Metalloxyde stets quantitativ mitgerissen.

Bei alkalischer Reaktion werden dagegen von allen Metallbasen kleine aber sichere Mengen vom Mastix adsorbiert, sobald überhaupt Flockung eintritt.

Es folgt daraus, daß durch Mastix enteiweißte Flüssigkeiten sich durchaus für alle Aschenbestimmungen noch geeignet erweisen, und vor allem auch für Bestimmungen des Harnstoffs und der Aminosäuren, von denen wir zunächst das Glykokoll untersucht haben.

Als wir diese Untersuchungen bereits abgeschlossen hatten, arbeiteten wir die für viele Zwecke bequemere Enteiweißungsmethode mit Kaolin aus.[1]) Wir können vorläufig hinzufügen, daß ein wesentlicher Unterschied für analytische Zwecke in dem gedachten Sinne zwischen Mastix und Kaolin nicht existiert. So werden z. B. $ClNH_4$, Harnstoff, Hippursäure, Traubenzucker Glykokoll, Phenylalanin, Leucin beim Schütteln mit Kaolin nicht adsorbiert.

---

[1]) Rona u. Michaelis, diese Zeitschr. 5, 365, 1907.

Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Arzneimitteln auf die Magensaftsekretion.

I. Mitteilung.

Über Eisen und Eisenpräparate.

Von

Johann Feigl.

(Aus der experimentell biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. August 1907.)

Über eine namhafte Reihe der wichtigen anorganischen Verbindungen, soweit sie in irgend einer Beziehung zur internen Therapie stehen, liegen bereits ausführliche Experimentaluntersuchungen vor. Diese biologischen Untersuchungen haben unsere Kenntnisse über die Wirkungen anorganischer Salze, Säuren, sowie Salzgemische erheblich gefördert und erweitert. Stellenweise haben die experimentellen Methoden neue Gesichtspunkte geschaffen und bisher nicht genügend erklärte Wirkungen der Deutung zugänglicher gemacht. Zu den interessanten Versuchen sind die Prüfungen der natürlichen und künstlichen Mineralwässer zu rechnen. Über dieses Gebiet liegen mehrere Arbeiten aus der experimentell biologischen Abteilung vor, die die bekannten Mineralwässer zum Gegenstande haben. Diesen Untersuchungen liegt die Idee zugrunde, durch eine Prüfung jedes einzelnen chemischen Individuums in den Salzgemischen der Heilquellen erst dessen spezifische Wirkung kennen zu lernen. Auf Grund der Kenntnis von den Einflüssen jedes Bestandteils ließ sich dann, gleichsam synthetisch, die Komplexwirkung deuten und verstehen. Dabei konnte man in einigen Fällen feststellen, wie die spezifischen Effekte der Komponenten abgeschwächt oder

verdeckt werden, und wie die Resultante denn doch in Wahrheit die einzelnen Einflüsse in sich vereinigt. Auf rein experimentellem Wege ist mit einem Gemische von Natriumbicarbonat und Natriumchlorid von Rozenblat[1]) der Versuch unternommen worden, die antagonistischen Wirkungen zu studieren. Auf diese Arbeit, die für eine genauere Kenntnis der Komplexwirkungen von Salzgemischen lehrreich ist, sei hier verwiesen.

Dieser Gesichtspunkt, der Salzwirkung in den Heilquellen nachzugehen, hat mir Anregung zu der Untersuchung der Eisensalze auf ihre sekretorische Wirkung gegeben. Sind die Mineralwässer auch Lösungen ziemlich komplizierter Salzgemische, so müßte die spezifische Eisenwirkung doch in etwa in die Erscheinung treten. Dieses schien namentlich bei dem Roncegnowasser möglich, welches neben seinem Arsengehalt[1]) einen ziemlich hohen Prozentsatz von Eisen (als Ferriverbindung) enthält. Es tritt dies schon äußerlich in die Erscheinung durch die spezifische gelbe Eisenfarbe und den deutlich ausgeprägten adstringierenden Geschmack.

Um nun ein klares Bild zu gewinnen, welche Wirkung das Eisen in seinen verschiedenen Formen auf die sekretorische Funktion der Magendrüsen ausübt, mußte als Grundlage die experimentelle Prüfung reiner Eisenpräparate gewählt werden. Es war dies auch aus einem andern Grunde notwendig, nämlich weil die Therapie eine ganze Reihe von Eisenpräparaten verwendet, in denen es in den verschiedensten Formen auftritt. Metallisches Eisen, Eisenlösungen aus der Ferro- wie Ferrireihe in ionisierter Form wie auch kolloidaler Lösung finden ausgedehnte Anwendung. Die meisten Präparate enthalten jedoch Zusätze sehr verschiedener Art, die ihrerseits spezifische Wirkungen auf die Sekretionstätigkeit des Magens zu äußern vermögen. Es seien da genannt die alkohol- und ätherhaltigen, sowie mit Zucker und Eiweißlösungen versetzten zahlreichen Präparate, von den biologischen Eisenmitteln ganz abgesehen, welche organisch gebundenes Metall in natürlicher Gruppierung enthalten. Dieses sind die gleichfalls zahllosen Hämoglobinpräparate. Während durch die genannten Gesichtspunkte die Arbeit somit eine willkommene Beschränkung erfuhr und nur die wesentlichsten Vorkommnisse

---

[1]) Diese Zeitschr. **4**, 500, 1907.

zur Untersuchung herangezogen werden mußten, war in anderer Richtung eine Erweiterung nötig. Es war nämlich von Interesse, das häufig als Begleiter des Eisens in der Therapie verwandte Mangan wenigstens in den Umrissen seiner Wirkung kennen zu lernen. Seinen andern Begleiter ebenfalls in Mineralwässern, das Arsen, ließ ich vorläufig aus dem Arbeitsplane heraus, um ihm eine genauere Untersuchung zu widmen, die ja wegen der eigenartigen physiologischen Wirkung und den vielseitigen Anwendungsformen wohl gerechtfertigt erscheint.

Die Versuche mit Eisenpräparaten wurden — was die Konzentrationsverhältnisse der zu verfütternden Lösungen anging — den therapeutischen Dosierungen angepaßt. Als typische Beispiele aus der großen Menge der möglichen Eisenverbindungen wurden gewählt und untersucht:

A) 1. Fe Cl_3-Lösung (Ferrum sequichloratum des Arzneibuches).
2. $FeSO_4$ 7 ag 0,9% (Ferrum sulfuricum oxydulatum des Arzneibuches).
3. Eisenpulver (Ferrum hydrogenio reductum).
4. Eisenhydroxyd kolloidal $Fe(OH)_3$ (Ferrum hydricum dialysatum).
5. Ferricitrat (Ferrum citric. oxydatum).
6. Mangansulfat kryst. $MnSO_4$ 4 aq.

B) Typen von therapeutischen Präparaten und natürlichen Brunnenwässern.
1. Liquor ferri manganici peptonati Helfenberg.
2. Schwalbacher Stahlbrunnen.
3. Roncegnowasser.

Die Technik der Untersuchungen war kurz die folgende:

Experimentiert wurde an Magenblindsackhunden nach **Pawlow**. Die Brauchbarkeit der „Magenblindsackhunde" zu messenden Experimenten über den Verlauf der Drüsentätigkeit im Magen beruht bekanntlich darauf, daß die Sekretion im „großen" Magen mit der im „kleinen" parallel läuft und qualitativ wie quantitativ koinzidiert. Der „kleine" Magen wird nach der Methode **Pawlow** aus dem Fundusteile gebildet und bei dieser Operation die Nerven intakt gelassen. Auf Grund dieser Voraus-

setzung ist es verständlich, warum die Schleimhaut in beiden Abschnitten parallel arbeitet. Während durch den natürlichen Weg die Speisen den großen Magen erreichen und passieren, arbeitet der kleine Magen ganz für sich und entleert seinen Saft durch die Fistel. Gesammelt wird der Saft in üblicher Weise durch eine Magenflasche, wozu ich die kürzlich beschriebene Form verwandte.

Zunächst wurde nun bei den nüchternen Tieren eine Sekretion auf Wasser hervorgerufen. Dazu erhielten sie 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde, wodurch die Drüsentätigkeit des Magens zu einer kurzen Sekretion angeregt wurde. Von je 30 zu 30 Minuten wurde der in der Magenflasche angesammelte Saft abgenommen, gemessen und einer analytischen Prüfung unterzogen. Diese erstreckte sich auf die Bestimmung der in der jeweiligen Saftmenge erhaltenen Quantität Pepsin wie der freien Salzsäure. Die Fermentbestimmungen wurden nach der sehr eleganten, kürzlich in diesem Institut von E. Fuld ausgearbeiteten Methode angestellt. Da diese Methode noch nicht näher bekannt ist und andererseits vor den zurzeit vorhandenen Methoden des gleichen analytischen Zweckes eine ganze Reihe von Vorzügen besitzt, so möchte ich sie kurz skizzieren.

Um den Gehalt eines Hundemagensaftes an Pepsin zu bestimmen, geht man in folgender Weise vor: Absteigende Mengen der 10fachen und 100fachen Verdünnung (meistens erweist die letztere sich als völlig ausreichend) werden in eine Reihe enger Reagensröhrchen (von 1,2 cm lichter Weite) gefüllt. Zur Verdünnung nimmt man eine Salzsäure von der Acidität 30 (das ist $^1/_{300}$ norm. Salzsäure). Nachdem man eine Serie so vorbereitet hat, gibt man in jedes 2 ccm einer Edestinlösung; diese enthält 0,1 g krystallisiertes Edestin[1]) (aus Hanf) gelöst in 100 ccm der beschriebenen Salzsäure.

Man läßt die einzelnen Portionen eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur digerieren und überschichtet alsdann aus der Pipette mit starkem Ammoniak. Dabei bildet sich an der Berührungszone der beiden Flüssigkeiten ein weißer Ring, und zwar beobachtet man diesen in allen Fällen, wo noch unangegriffenes Edestin vorhanden ist.

---

[1]) Präparat der Höchster Farbwerke.

Das Röhrchen mit dem geringsten Pepsingehalt, welches keinen Ring mehr erkennen läßt, läßt somit einen direkten Rückschluß auf die peptische Kraft des zur Untersuchung gebrachten Magensaftes zu. Den Modus der Berechnung erörtert man am besten an einem praktischen Beispiel.

Wenn $^2/_3$ ccm der 100fachen Verdünnung eines Magensaftes die Ringbildung in 2 ccm Edestinlösung eben zu verhindern imstande sind, so ergibt sich die peptische Kraft des betreffenden Magensaftes zu $\frac{100 \times 2}{0{,}67}$. Der genannte Magensaft enthält also 300 Pepsineinheiten. Mit andern Worten: er ist 300fach.

I. Versuche mit Ferrichloridlösung.

Zu den Versuchen diente eine Lösung von 0,5% Gehalt an $FeCl_3$ (Ferrum sequichloratum der Pharmakopöe). Die Lösung mußte einen ganz geringen Überschuß an freier Salzsäure enthalten, um die sonst zu weit gehende hydrolytische Dissoziation — deren Ende die Bildung kolloidalen Eisenhydroxyds ist — in gewissen Grenzen zu halten. Gleichwohl ist eine Ferrichloridlösung dieses Gehalts zu einem merkbaren Betrage im Sinne der Gleichung

$$FeCl_3 + 3\,H_2O \rightleftarrows Fe(OH)_3 + 3\,HCl$$

hydrolytisch gespalten. Diese bereits länger bekannte Tatsache scheint auf den ersten Blick die Verhältnisse bei der Magensaftsekretion zu komplizieren. Wir haben also in einer Lösung des genannten Gehaltes anzunehmen

$FeCl_3$
$Fe(OH)_3$. HCl

Bezüglich: Ferriionen (Fe...); Chlorionen, aus dem nicht hydrolytisch gespaltenen Salze und aus der Salzsäure; schließlich Wasserstoffionen.

Da jedoch die Salzsäure in einer Konzentration vorliegt, welche sich erheblich unter der des Magensaftes hält, so kann man sie bei diesen Versuchen außer Betracht lassen. Hat doch Pawlow nachgewiesen, daß sie innerhalb dieser Grenzen in-

different ist und keinerlei spezifischen Einfluß auf die Drüsentätigkeit äußert.

Es bleiben somit Ferriionen und das nicht dissoziierte kolloidale Eisenhydroxyd. Wie die Versuche weiterhin zeigten, sind die Wirkungen dieser Verbindungen antagonistisch. Eine Ferrisalzlösung, so wie sie unter den eben diskutierten Verhältnissen ist, hat eine deutliche und ausgesprochene Hemmung der Sekretionstätigkeit im Gefolge. Diese äußert sich sowohl in der Menge des sezernierten Saftes wie in der Zeitdauer der Sekretion. Wie die Tabellen zeigen, ist der Vorgang fast durchgehend auf zwei Drittel der als normal angesehenen „Wassersekretion" gesunken. Damit geht fast stets eine erheblichere Konzentration des abgesonderten Saftes einher, wenigstens was das Ferment anbetrifft. Nun werden später Versuche mit einer reinen kolloidalen Lösung von $Fe(OH)_3$ beschrieben, die das Ergebnis hatten, daß die Sekretion nicht gehemmt wurde, vielmehr, was Zeit und Menge des Magensaftes anging, eher ein wenig angeregt erschien. Um aus diesen zwei entgegengesetzten Wirkungen nun die typische $FeCl_3$-(bezüglich Ferriionen) Wirkung zu isolieren, konnte man sich vor die Aufgabe gestellt sehen, eine hydrolytisch nicht dissoziierte Lösung zu erproben. Die Herstellung einer solchen war jedoch für obige Versuche als ausgeschlossen anzusehen. Einmal ist sie nur in nicht dissoziierenden Lösungsmitteln (oder Gemischen, die sich praktisch gleich verhalten) denkbar und diese hätten dann wieder zwei Bedenken gegen sich: einmal den Umstand, daß die elektrolytische Dissoziation fortfiele, und zweitens, daß die Sekretion entscheidend von dem Bestandteil des Lösungsmittels abhing. Eine Lösung dieser Art könnte möglicherweise die Tinctura ferri aetherea sein. Praktisch aber hätten wir in letzter Linie doch wieder eine partiell hydrolytisch dissoziierte ferriionen-, wasserstoffionen- und chlorionenhaltige Lösung vor uns, wenn wir an den Auflösungsvorgang in der Magensalzsäure denken.

Aus dieser Betrachtung geht hervor, daß die typische Hemmung, die die Versuche erkennen lassen, das Resultat der antagonistischen Wirkung der zwei Hauptfaktoren in unserer Eisenlösung ist. Wir können aber ferner schließen, daß der wirkliche Effekt einer reinen $FeCl_3$-Lösung erheblich stärker sein muß, als die von den erwähnten äußeren Umständen abhängigen Versuche ergeben.

Unter Anwendung einer 0,5 prozentigen Lösung wurden jedesmal verfüttert: 200 ccm Lösung

entsprechend ca. 1 g Ferrichlorid
oder ca. 0,4 g Eisen.

Versuche vom 20. Januar.

Um 9 h erhalten die Tiere 200 ccm Wasser, worauf die Sekretion sich wie folgt gestaltet:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
4,0	9^{30}	2,0
1,8	10	1,5
1,6	10^{30}	0,8
1,3	11	0,5
1,2	11^{30}	0,3
0,6	12	0,1
0,3	12^{30}	
Spur	1	
10,8 ccm Gesamtmenge		5,2 ccm Gesamtmenge

Nach dem Abklingen der „Wassersekretion" 200 ccm der Eisenlösung mit folgendem Resultat verfüttert um 1½ h.

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,9	2	1,5
1,3	2^{30}	1,3
0,6	3	0,9
0,1	3^{30}	0,6
—	4	0,1
3,9 ccm Gesamtmenge		4,4 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 22. Januar.

Um 9 h verfüttert 200 ccm Wasser, worauf die Sekretion einsetzt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,8	9^{30}	2,0
1,5	10	1,5
1,3	10^{30}	0,9
0,9	11	0,7
0,8	11^{30}	0,2
0,5	12	—
0,2	12^{30}	—
7,0 ccm Gesamtmenge		5,3 ccm Gesamtmenge

Nun werden 200 ccm Ferrichlorid um 1 h per os gegeben und die Tiere reagieren wie folgt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,5	1^{30}	2,0
0,8	2	1,2
0,4	2^{30}	0,9
0,1	3	0,4
—	3^{30}	Spur
2,8 ccm Gesamtmenge		4,5 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 23. Januar.

Um 9 h erhalten die Tiere 200 ccm Wasser und sezernieren:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
3,9	9^{30}	3,5
2,2	10	1,8
1,9	10^{30}	1,6
1,5	11	1,3
0,7	11^{30}	1,0
0,3	12	0,6
—	12^{30}	0,3
10,5 ccm Gesamtmenge		10,1 ccm Gesamtmenge

Um 1 h 200 ccm Eisenlösung und darauf folgende Sekretion:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
2,0	1^{30}	1,8
0,9	2	1,1
0,5	2^{30}	0,5
0,1	3	0,2
3,5 ccm Gesamtmenge		3,6 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 19. Juli.

Von diesen Versuchen gebe ich die vollen Analysenzahlen — bei den übrigen sind sie aus Gründen der Raumersparnis fortgelassen worden.

Um 9 h werden 200 ccm Wasser mit der Schlundsonde gegeben und rufen folgende Sekretion hervor:

	Hund A.				Hund B.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5				3,5			
10	0,9				1,4			
10^{30}	0,5	0,0035	50	25	0,8	0,0064	65	30
11	0,25				0,4			
11^{30}	—				0,2			
	3,15 ccm Gesamtmenge				6,3 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h wird 200 ccm Ferrichloridlösung gegeben:

	Hund A.				Hund B.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	0,7				1,3			
1	0,5	0,001	60	40	0,5	0,005	85	52,5
1^{30}	0,1				0,2			
2	—				Spur			
	1,3 ccm Gesamtmenge				2,0 ccm Gesamtmenge			

Ferrichloridlösung, bzw. darin als wesentliches Moment die Ferriionen, geben eine Verkürzung des Sekretionsvorganges auf mindestens die Hälfte der Zeit. Die sezernierte Saftmenge hält sich durchweg auf ein Drittel der Menge nach der Verabreichung

von Wasser, auf die wir — als Normalwerte — die Eisenwirkung beziehen. Der Magensaft scheint durchweg konzentrierter in bezug auf Ferment, wie auf Gesamtacidität und freie Salzsäure. Somit wird durch diese Form des Eisens die Sekretion in dem Sinne gehemmt, daß sie räumlich und zeitlich auf einen kleineren Raum zusammengedrängt erscheint.

II. Versuche mit Ferrosulfat.

Zu den Versuchen diente eine Lösung, die annähernd dieselbe Menge Eisen in Liter enthielt wie die Ferrichloridlösung, entsprach somit 0,9 g krystallisierten Ferrosulfats ($FeSO_4$ 7ag) in 100 ccm. Ich benutzte ein möglichst reines Salz in klaren, nicht verwitterten Krystallen und überführte es in Lösung unter den aus der analytischen Chemie her bekannten Kautelen. Es geschah dies, um vor Täuschungen durch dreiwertiges Eisen gesichert zu sein. Die so erhaltene Lösung war farblos und besaß nur sehr schwachen, adstringierenden Geschmack. Zu jedem Versuche wurde genommen:

200 ccm der Lösung, entsprechend etwa
1,8 g krystallisiertem Ferrosulfat oder
1,0 g wasserfreiem Ferrosulfat oder
0,5 g Eisen.

Das Versuchsergebnis war, wie aus den Tabellen zu entnehmen ist, daß der Ferrosulfatlösung ein wesentlicher, starker Einfluß auf die Drüsentätigkeit abzusprechen ist, daß sie vielmehr nur in geringen Grenzen eine Hemmung verursacht und vor allem die Zeitdauer, in der die Sekretion abläuft, nicht verkürzt. Auch die Konzentration des Saftes in bezug auf Ferment scheint nicht wesentlich geändert.

Versuche vom 26. Januar.

Um 9 h 200 ccm Wasser:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,3	9^{30}	3,8
0,7	10	1,8
0,6	10^{30}	1,1
0,4	11	0,6
0,2	11^{30}	0,2
3,2 ccm Gesamtmenge		7,5 ccm Gesamtmenge

Um 12 h werden 200 ccm der Eisenlösung gegeben, worauf die Sekretion folgende Gestalt annimmt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,3	12^{30}	3,0
0,5	1	1,5
0,3	1^{30}	0,8
0,2	2	0,4
Spur	2^{30}	0,1
	3	—
2,3 ccm Gesamtmenge		5,8 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 19. Januar.

Um 9 h 200 ccm Wasser:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,5	9^{30}	1
0,8	10	0,7
0,6	10^{30}	0,5
0,4	11	0,4
0,3	11^{30}	0,2
0,1	12	Spur
Spur	12^{30}	Spur
3,7 ccm Gesamtmenge		2,8 ccm Gesamtmenge

Um 1 h werden 200 ccm der Eisenlösung gegeben. Die nun folgende Sekretion führt zu folgenden Werten:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,5	1^{30}	1
0,6	2	0,3
0,5	2^{30}	0,2
0,3	3	0,2
0,2	3^{30}	Spur
Spur	4	Spur
3,1 ccm Gesamtmenge		1,7 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 18. Juli.

Diese Versuche seien mit den analytischen Befunden mitgeteilt.

Um 9 h wird den nüchtern aufgestellten Tieren je 200 ccm Wasser gegeben. Die Sekretion sieht aus wie folgt:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,3				4,0			
10	0,7				1,5			
10^{30}	0,5	0,004	50	30	0,8	0,0064	67,5	30
11	0,3				0,3			
11^{30}	0,2				Spur			
	3 ccm Gesamtmenge				6,6 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h werden je 200 ccm Eisenlösung verfüttert, worauf die Sekretion einsetzt:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,1				3,5			
1	0,6				1,5			
1^{30}	0,4	0,003	55	30	0,6	0,0064	75	52,5
2	0,2				0,3			
2^{30}	0,1				0,1			
3	—				—			
	2,4 ccm Gesamtmenge				6 ccm Gesamtmenge			

Die Versuche über Ferrosulfat — hier sind sechs beschrieben — ergeben die Eisenwirkung, wie wir sie von unserer Ferrichloridlösung kennen, aber wesentlich abgeschwächt. Die Zeitdauer des Abklingens ist nur unwesentlich verkürzt und die Quantität des Saftes um ein wenig vermindert. Die Säurezahlen weisen eine geringe Steigerung auf.

Mir will es scheinen, als ob Ferrosulfat dasjenige Präparat ist, bei dem die Eisenwirkung (wenn man sie in der Hemmung der Sekretion, dafür aber in einer Verstärkung der peptischen Kraft des Magensaftes sehen will) am mildesten und schonendsten vor-

handen ist. Ob das durch das Ferroion bedingt ist oder durch das Ion der Schwefelsäure, ist vorläufig nicht entschieden und hängt lediglich vom Ausfall der Untersuchung des Ferrisulfates ab (Ferriion und Schwefelsäure).

III. Eisen.

Metallisches Eisen wird medizinisch in Form verschiedener Rezepte verordnet. Meistens finden sich begleitende Substanzen wie z. B. in der Tinctura Athenstaedt. Aus bereits erörterten Gründen ist die Untersuchung dieser komplizierten Gemische zwecklos. Daher wurde zu den Versuchen reines Eisenpulver (Ferr. hydrogenio reduct) in Verbindung mit 200 ccm Wasser verabreicht, derart, daß zuerst mit einem Teile des Wassers das Metallpulver durch die Schlundsonde in den Magen geschwemmt, worauf der Rest des Wassers (ca. die Hälfte) schnell nachgegossen wird.

Die Wirkung des metallischen Eisens war eine völlig unerwartete. Die erhaltenen Mengen Saft und die Konzentrationsverhältnisse der einzelnen Portionen zeigten, mit denen der Eisenlösungen verglichen, keinerlei Ähnlichkeit. Die Sekretion setzt stark ein und dauert lange an. Große Mengen eines klaren, hellen Saftes werden sezerniert, der in bezug auf Fermentgehalt, namentlich in den ersten Anteilen, verdünnter zu sein scheint. Wir haben es hier also mit einem sekretionsbefördernden Agens ersten Ranges zu tun und müssen die spezifischen Wirkungen der Eisenlösung völlig vermissen. Es soll versucht werden, die Beschleunigung der Drüsentätigkeit auf Grund der Eisengabe zu deuten, wozu Versuche mit andern Metallen notwendig erscheinen können.

Eine Ansicht, der man anfänglich zuneigen könnte, ist die: Das Eisen besitzt große Verwandtschaft zum Chlor, wird also energisch und begierig — und wegen seiner feinen Verteilung auch schnell — mit der vorhandenen Salzsäure reagieren. Schon durch diesen Verbrauch sollte dann Hemmung der Sekretion oder Verminderung freier Salzsäure eintreten. Die dann vorhandene $FeCl_3$-Lösung sollte ihre spezifische Salzwirkung (resp. Ionenwirkung) äußern und somit ein kumulativer Effekt entstehen.

Während dieser Gedankengang prima vista sehr bestechend ist und zu einer praktischen Erprobung in der Therapie der

Hyperacidität wohl anregen konnte, haben doch die Experimente das Gegenteil erwiesen. Damit kann man den Versuch, der mit einem metallischem Element zu gedachtem Zwecke unternommen wurde, sowohl theoretisch wie praktisch als verfehlt kennzeichnen. Bei der Wirkung durch das Metall läßt sich nirgendwo ein Anklang an die Salzwirkung finden. Wie sie sein könnte, zeigen nur die Versuche über das Ferroion am Ferrosulfat. Und daß es im Magen zur Bildung des Ferroions kommt, ist außer Zweifel. Somit müssen wir den Vorgang der Lösung uns langsam, kontinuierlich und derart vorstellen, daß die Salzwirkung durch den vorwaltenden Effekt des Auflösungsvorganges verschluckt wird.

Hierzu die folgenden Versuche:

Versuche vom 16. Januar.

Beginn der Versuche um 9 h indem den aufgestellten, nüchternen Tieren 200 ccm Wasser gegeben wird. Die Sekretion gestaltet sich wie folgt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,8	9^{30}	2,2
1,2	10	1,3
0,6	10^{30}	1,0
0,4	11	0,4
0,2	11^{30}	0,3
—	12	
4,2 ccm Gesamtmenge		5,2 ccm Gesamtmenge

Um 12½ h wird in beschriebener Weise 0,5 g Eisenpulver in Verbindung mit 200 ccm Wasser gegeben. Von der dadurch angeregten Drüsentätigkeit geben folgende Zahlen ein Bild:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
2,8	1	4,3
2,6	1^{30}	2,0
2,2	2	0,9
1,8	2^{30}	0,5
1,5	3	0,3
1,1	3^{30}	0,3
0,8	4	0,3
0,6	4^{30}	Spur
0,5	5	Spur
0,3	5^{30}	
14,2 ccm Gesamtmenge		8,6 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 4. Juli.

Um 9 h wird den nüchternen Tieren 200 ccm Wasser gegeben. Die Sekretion gibt folgende Zahlen:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,5	9^{30}	2,3
0,8	10	1,5
0,5	10^{30}	1,1
0,2	11	0,8
Spur	11^{30}	0,6
—	12	0,5
—	12^{30}	0,3
3 ccm Gesamtmenge		7,1 ccm Gesamtmenge

Nunmehr wird um 1 h 0,5 g Eisenpulver und 200 ccm Wasser gegeben. Es zeigt sich folgendes Bild:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,8	1^{30}	6,4
0,8	2	5,2
0,4	2^{30}	5
0,3	3	5
0,3	3^{30}	4,5
0,2	4	3
0,1	4^{30}	2,8
Spur	5	2,5
	5^{30}	1,6
	6	0,8
	6^{30}	0,5
	7	0,3
	7^{30}	0,1
3,9 ccm Gesamtmenge		37,7 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 9. Juli.

Diese Versuche sind unter Beigabe der analytischen Daten dargestellt. Beginn 9 h: 200 ccm Wasser an die nüchternen Tiere verfüttert.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,2				5			
10	0,8				2,3			
10^{30}	0,5	0,004	60	40	0,8	0,0064	50	30
11	0,2				0,5			
11^{30}	—				0,3			
	2,7 ccm Gesamtmenge				8,9 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h wird 0,5 g in Verbindung mit 200 ccm Wasser gegeben und die Sekretion gestaltet sich wie folgt:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	2,5	0,01	55	25	8,5	0,01	40	20
1	1,4	0,01	60	30	5,5	0,01	40	25
1^{30}	1,1				4,8	0,008	45	25
2	1				2,5	0,008	45	30
2^{30}	0,7	0,006	65	35	2	0,0064		
3	0,5				1,8	0,004	65	35
3^{30}	0,2				2,2	0,004		
4	Spur				1,7			
4^{30}	—				1			
5	—				0,5	0,0064	70	45
5^{30}	—				0,3			
	7,4 ccm Gesamtmenge				27,8 ccm Gesamtmenge			

Die soeben zahlenmäßig dargestellten Experimente zeigen uns, wie der Magen mit Saftmassen geradezu überschwemmt wird. Weitere Versuche, die zur näheren Untersuchung der Metallwirkung und zu einer Deutung dieser Verhältnisse unternommen wurden, finden sich in der zweiten Mitteilung im gleichen Hefte dieser Zeitschrift.

IV. Kolloidales Ferrihydroxyd.

Dieses Präparat wurde im Anschluß an das Ferrichlorid in die Untersuchung mit aufgenommen. Zur Verwendung kam eine 0,5prozentige Lösung von Ferrihydrosol, wie solches von Kahlbaum als Ferrum oxydatum dialysatum bezogen war. Das trockene Präparat stellte die bekannten braunen lackartigen

Lamellen dar und löste sich zu der angegebenen Konzentration leicht in Wasser. Diese Lösung ist von klarer, durchsichtiger, lichtrotbrauner Farbe — der Eigenfarbe des Ferrihydrosols. Sie ist völlig geschmacklos. Im Vergleiche hierzu sei des schwachen, aber ausgesprochen adstringierenden Geschmacks der 0,5 prozentigen Ferrichloridlösung gedacht. Auch diese Lösung hatte ja nicht mehr die Farbe des Ferriions, sondern eine erheblich dunkleren Ton. Das hing natürlich ab von der Konzentration der Cl- bzw. H - Ionen des hydrolytisch gespaltenen Anteils. Je mehr Hydrolyse, desto mehr Eigenfarbe des Ferrihydrosols, desto dunklerer Ton der Lösung.

Die Wirkung auf die Funktion der Drüsen ist keine ausgesprochene. Man kann aus den Ergebnissen ablesen, daß die Reaktionsdauer möglicherweise etwas verlängert erscheint, während das Quantum der ersten Portionen (½ h, 1 h) deutliche Vermehrung nicht aufweist. Den analytischen Befunden zufolge sind die Konzentrationsverhältnisse nur unwesentlich verschoben.

Inwiefern nun darum die kolloidalen Lösungen von Schwermetallverbindungen, die als solche unlöslich sind, in bezug auf die Magensaftsekretion anders wirken als eine Aufschwemmung von unlöslichem Körper im Wasser, ist durch den Umstand der kolloidalen Lösung allein wohl nicht ausreichend erklärt.

Durch Vorversuche habe ich ermittelt, daß stark geglühtes Eisenoxyd annähernd indifferent ist und je nach seiner Beschaffenheit verschiedenartige Wirkungen zeigen kann. Eisenhydroxyd, frisch gefällt und alkalifrei gewaschen, wirkt hemmend; allerdings scheinen den bisherigen Versuchen nach diese Verhältnisse nicht ganz eindeutig zu sein.

Versuche vom 15. Juli.

Um 9 h 200 ccm Wasser den nüchternen Hunden gegeben. Darauf folgende Sekretion:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,3	9^{30}	3,2
0,7	10	2,5
0,4	10^{30}	0,8
0,2	11	0,3
—	11^{30}	0,2
—	12	Spur
2,6 ccm Gesamtmenge		7,0 ccm Gesamtmenge

Nun wurden um 12½ h je 200 ccm der Ferrihydrosollösung gegeben. Daraufhin setzte die Sekretion ein und ergab folgende Zahlen:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,5	1	2,5
0,9	1^{30}	1,1
0,8	2	0,7
0,6	2^{30}	0,6
0,5	3	0,6
0,1	3^{30}	0,3
Spur	4	Spur
4,4 ccm Gesamtmenge		5,8 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 17. Juli.

Diesen Versuchen sind die analytischen Daten beigefügt.

Beginn 9 h; 200 ccm Wasser per os an die nüchternen Tiere verfüttert. Die Sekretion beginnt und zeigt folgende Werte:

Zeit	Hund A. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund B. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,0	0,0064	70	20	2,5	0,0064	65,0	30
10	0,6				1,1			
10^{30}	0,3				0,5			
11	0,1				0,2			
11^{30}	—				—			
	2,0 ccm Gesamtmenge				4,3 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h erhalten die Lösung des Ferrihydrosols, und die Sekretion gestaltet sich folgendermaßen:

Zeit	Hund A. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund B. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,2	0,004	70	20	2,8	0,0064	67,5	42,5
1	0,9				1,2			
1^{30}	0,6				0,7			
2	0,2				0,4			
2^{30}	0,1				0,2			
3	—				Spur			
3^{30}	—				—			
	3,0 ccm Gesamtmenge				5,3 ccm Gesamtmenge			

V. Versuche mit Ferricitrat.

Schließlich sollen noch Versuche mit Ferricitrat beschrieben werden. Diese Experimente wurden darum unternommen, weil ein anderes Salz der Citronensäure — Na-Citrat — bereits vom Standpunkte der Frage nach seiner Wirkung auf die Magensaftsekretion untersucht wurde.[1]) Na-Citrat war darum geprüft worden, weil es von Boas in derselben Weise wie Na-Bicarbonat therapeutisch gegeben wird (aus äußeren Gründen: Geschmack). Bei Ferricitrat war wieder eines zu bedenken, was bei dem Natriumsalze nicht mit in Frage kam, nämlich die fast allen Ferrisalzen eigene, oben erwähnte Neigung zur hydrolytischen Spaltung. Auch in einer 1 prozentigen Lösung war diese als fast komplett anzusehen, wie der Geschmack erwies. Während das trockene Salz — äußerlich ähnelt es dem kolloidalen Ferrihydroxyd — der Formel eines Ferricitrates entspricht, hat die Lösung schon deutlichen und rein sauren Geschmack. Namentlich bei längerem Stehen (das Salz ist träge löslich) tritt die dunkel-porterbraune Farbe des kolloidalen $Fe(OH)_3$ hervor. Wir haben also eine freie organische Säure in der Lösung, nebenher Ferrihydrosol.

Die Wirkung auf die Drüsentätigkeit ist keine stark ausgesprochene. Gleichwohl ist die Verlängerung des Sekretionsverlaufes deutlich und ebenso können die ersten Saftportionen erheblich größer ausfallen als bei der als normal angesehenen „Wassersekretion".

Auch dieses Präparat gelangte in 0,5 prozentiger Lösung zur Verwendung. Das Präparat ist träge löslich und wurde daher in gewogener Menge mit dem zugehörigen Wasser 3 h auf der Maschine geschüttelt. Damit war völlige Auflösung zu einer gelben Flüssigkeit von fadem, später säuerlichem Geschmacke erzielt worden.

Versuche vom 20. Juli.

Um 9 h wurde den nüchternen Tieren 200 ccm Wasser verabreicht. Die Sekretion, die daraufhin einsetzte, ist in den folgenden Zahlenwerten ausgedrückt:

---

[1]) Rodari - Zürich, bisher unveröffentlicht.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5				3,5			
10	0,9				1,1			
10^{30}	0,5	0,0064	70	50	0,7	0,0025	67,5	42,5
11	0,1				0,2			
11^{30}	Spur				Spur			
	3,0 ccm Gesamtmenge				5,5 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h war diese „Wassersekretion" abgeklungen und die Hunde wieder nüchtern, so daß denselben 200 ccm der Lösung, entsprechend 1 g Ferricitrat gegeben werden konnte. Es setzte folgende Sekretion ein:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	3,2	0,0025	65	45	4,6	0,005	37,5	12,5
1	1,2				2,8	0,005		
1^{30}	0,9				0,9			
2	0,7				0,5		27,5	15,0
2^{30}	0,5	0,004	40	30	0,5	0,005		
3	0,2				0,3			
3^{30}	Spur				0,1			
	6,7 ccm Gesamtmenge				9,7 ccm Gesamtmenge			

VI. Versuche über Mangansulfat.

Bevor ich nun zu den angewandten Eisensalzpräparaten übergehe, soll hier die Untersuchung des Mangansulfats kurz beschrieben werden. Mangansalze werden therapeutisch vielfach neben Eisensalzen mit diesen zusammen gegeben, und zwar fast stets in untergeordneter Menge. Ich benutzte eine 0,5 prozentige Mangansulfatlösung.[1]) Diese Lösung war farblos und schmeckte schwach fade. Die Versuche zeigten, daß der Lösung eine, wenngleich nicht sehr ausgesprochene, treibende Wirkung eigen ist. Das Abklingen der Sekretion erschien gegenüber der supponierten

[1]) Bezogen auf $MnSO_4$, 4 aq.

Norm nicht wesentlich geändert. Dagegen erschienen, namentlich beim Hunde B, die ersten Portionen unzweifelhaft vermehrt.

Anläßlich der Untersuchung der Metalle wurde auch metallisches Mangan geprüft. Eine Beziehung zwischen der Reaktion auf Grund der Löslichkeit des Metallpulvers im Magensaft und der reinen Salzwirkung tritt nirgendwo hervor. Die schwach anregende Wirkung des Salzes bzw. des Ions Mn wird durch den eminent starken Effekt des Metalles während seiner Verzehrung durch die Salzsäure völlig verdeckt.

Die Therapie kennt das Mangan als Beihilfe zum Eisen, meistens in 10—20% des jeweils im Medikament vorhandenen Eisens. Dementsprechend verwandte ich zu seiner Untersuchung eine passend gewählte Lösung:

0,6% krystallisierten Sulfates, $MnSO_4$, 4 aq, oder
1,2 g des Salzes in 200 ccm Wasser (Fütterungsportion), in derselben
0,25 g Manganmetall.

Es liegen vier Versuche vor, die ich anschließend beschreibe. Bei zweien füge ich die Analysenbefunde in Tabellenform bei.

Versuche vom 25. Juni.

Um 9 h erhalten die nüchtern aufgestellten Tiere je 200 ccm mit der Schlundsonde. Darauf setzt die Sekretion ein:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,3	9^{30}	4,0
0,5	10	1,2
0,2	10^{30}	0,8
Spur	11	0,3
—	11^{30}	0,1
2,0 ccm Gesamtmenge		6,4 ccm Gesamtmenge

Um 11½ h war die Sekretion abgeklungen und den Hunden wird 200 ccm Manganlösung in üblicher Weise gegeben. Daraufhin folgende Sekretion:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,4	12	5,0
0,8	12³⁰	1,6
0,4	1	1,1
0,2	1³⁰	0,6
	2	0,2
	2³⁰	0,1
	3	Spur
2,8 ccm Gesamtmenge		8,6 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 1. Juli.

Um 9 h erhalten die nüchternen Hunde 200 ccm Wasser per os. Die Sekretion setzt ein:

Zeit	Hund A. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund C. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5	0,004	50	30	3,5	0,0064	65,5	35
10	0,6				1,0			
10^{30}	0,3				0,6			
11	0,2				0,3			
11^{30}	—				0,2			
	2,6 ccm Gesamtmenge				5,6 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h war diese „Wassersekretion“ abgelaufen und es wurden je 200 ccm der Manganlösung gegeben:

Zeit	Hund A. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Hund C. Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	1,5	0,003	60	32	4,8	0,005	75	50
1	0,8				1,5			
1^{30}	0,5				1,0			
2	0,3				0,6			
2^{30}	0,2				0,3			
3	Spur				0,2			
3^{30}	—				Spur			
	3,3 ccm Gesamtmenge				8,4 ccm Gesamtmenge			

Diese Ergebnisse charakterisieren uns die Wirkung des Manganoions in Verbindung mit dem Ion der Schwefelsäure als einen milde anregenden Körper. Er ist vergleichbar mit dem auch chemisch so ähnlichen Ferrosulfat. Hinsichtlich der Konzentrationsverhältnisse ist der auf Mangansulfat sezernierte Saft dem auf Ferrosulfat sezernierten an die Seite zu stellen (vgl. Tabellen). Diese milde, nicht sehr prononcierte Wirkung finden wir auch da, wo Mangan therapeutisch als Begleiter des Eisens auftritt. Bleibt in solchen Vorkommnissen die Salzwirkung überhaupt ersichtlich, so erweist sich das Eisen als vorherrschend.

In den mitgeteilten Experimenten hatte ich mir die Aufgabe gestellt, die spezifische Wirkung der reinen Eisensalze verschiedener Reihen und Modifikationen zu studieren. Nachdem ich für die Kenntnis dieser Fragen die Grundlage gegeben habe, will ich nun versuchen, in Gemischen dem Einflusse des Eisens nachzugehen. Ich suchte mir Beispiele verschiedener Art auf und verband damit die Frage nach der Einwirkung des Eisens in Mineralwässern.

VII. Schwalbacher Stahlbrunnen.

Dieses bekannte Mineralwasser von angenehmem Geschmacke bietet uns Gelegenheit, eine Komplexwirkung von zwei entgegengesetzten Agenzien zu studieren. Die Zusammensetzung des Brunnens zeigt uns neben Eisen die Kohlensäure. Während wir also von dem Metallsalze wissen, daß es einen hemmenden Einfluß auf die Funktion der Magendrüsen entfaltet, lehren uns die Versuche von Weidert und Pincussohn die Kohlensäure als treibendes Agens ersten Ranges kennen. Wie nun die Experimente ergeben, hat das Schwalbacher Wasser eine sekretionsbefördernde Wirkung. Wir können somit die Komplexwirkung in der Verdeckung der spezifischen Eisenwirkung finden. Die Kohlensäure allerdings in ihrer überwiegenden Menge vermag den Grundton anzugeben.

Zu den Versuchen wurde sowohl ganz frisches als ein solches Wasser verwendet, das durch mehrstündiges Stehen die Hauptmenge der Kohlensäure eingebüßt hatte. Auf diese Weise gelingt mir zu demonstrieren, wieviel von der anregenden Wirkung auf Rechnung der Kohlensäure zu setzen ist.

Versuche vom 25. Juli.

Um 9 h erhalten die Hunde 200 ccm Wasser. Darauf ergibt sich folgender Sekretionsvorgang:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,5	0,004	70	50	1,9	0,005	45	27,5
10	0,4				0,6			
10^{30}	0,2				0,2			
11	0,1				0,1			
	2,2 ccm Gesamtmenge				2,8 ccm Gesamtmenge			

Nach Ablauf dieser Wassersekretion werden jedem Hunde 200 ccm natürlichen Brunnenwassers gegeben — um 11½ h.

Der Hund A erhält abgestandenes, bei dem der größte Teil der Kohlensäure entwichen war. Im Gegensatze hierzu erhält der Hund C das frische Wasser mit dem vollen Gehalt an gelöster Kohlensäure. Die Sekretion verläuft in beiden Fällen mit einer Steigerung. Beim Hunde A ist sie nach Menge und Zeit nur unwesentlich. Der Hund C reagiert prompt und energisch auf die Kohlensäure. Der Sekretionsvorgang erweist sich als ums Doppelte verlängert, die Gesamtmenge ist erheblich vermehrt (annähernd verdreifacht) und die erste Portion (nach ½ h) allein gewaltig gesteigert.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12	1,6	0,006	85	65	6,5	0,010	87,5	70
12^{30}	0,4				1,3	0,010	75	55,0
1	0,3				0,8			
1^{30}	0,2				0,4			
2	—				0,2			
2^{30}	—				—			
	2,5 ccm Gesamtmenge				9,2 ccm Gesamtmenge			

Zur Illustration der Wirkung des Schwalbacher Wassers in nativer Form mit vollem Kohlensäuregehalte seien noch die zwei folgenden Versuche mit angegeben.

Versuche vom 26. Juli.

Um 9 h erhalten die Hunde 200 ccm Wasser. Darauf gestaltet sich die Sekretion wie folgt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
1,2	9^{30}	3,0
0,5	10	1,0
0,2	10^{30}	0,4
0,1	11	0,2
—	11^{30}	—
2,0 ccm Gesamtmenge		4,6 ccm Gesamtmenge

Nun erhalten die Tiere um 11½ h je 200 ccm des Mineralbrunnens, worauf die energische Sekretion einsetzt:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C. Saftmenge ccm
2,5	12	6,5
1,0	12^{30}	4,0
0,8	1	2,5
0,5	1^{30}	1,2
0,3	2	0,8
0,2	2^{30}	0,5
—	3	0,3
	3^{30}	0,1
5,3 ccm Gesamtmenge		15,9 ccm Gesamtmenge

VIII. Roncegnowasser.

In der Absicht, ein Eisenwasser von unzweifelhaftem Ferrisalzgehalte — kombiniert mit andern Salzen — zu prüfen, wurde das Roncegnowasser für geeignet erkannt. Es enthält reichliche Mengen dreiwertigen Eisens, ist ausgezeichnet durch seinen adstringierenden Geschmack und konnte vielleicht noch die hemmende Kraft des Ferriions veranschaulichen. Vorläufig war die Arsenwirkung allerdings unbekannt. Aber soweit Vorversuche ein Urteil abgeben, läßt sich Arsen in dreiwertiger Form (als

Arsentrioxyd. acidum arsenicosum) als ein beschleunigendes Agens ansehen[1]), wenigstens in der sehr verdünnten Lösung von 0,5 mg im Liter (= 0,1 mg in 200 ccm Wasser bei jedem Experiment). Roncegnowasser wurde in Mengen von 200 ccm zu den Prüfungen verwandt und erwies sich als hemmend. Der Grad der Hemmung, so wie er sich in der zeitlichen und räumlichen Zusammendrängung des Sekretionsverlaufes äußert, ergibt sich aus den Tabellen. Ferner wurde ein Versuch in besonderer Richtung veranstaltet, indem eine Lösung von Roucegnowasser in gewöhnlichem Wasser zu gleichen Teilen gegeben wurde. Dabei sollte sich beobachten lassen, daß die „hemmende Wirkung" weniger deutlich würde. Dies ist nach Ausweis des mitgeteilten Versuches tatsächlich gelungen. Die Konzentrationsverhältnisse — peptische Kraft und Säurewerte — finden sich in der Tabelle.

Danach zeigt sich also, daß in dem Salzkomplexe, der das wirkende Agens im Roncegnobrunnen bildet, das Eisen seiner Wirkung nach vorherrscht und dem ganzen seine Wirkung aufdrückt.

Versuche vom 27. Juli.

Um 9 h erhalten die Tiere 200 ccm Wasser und reagieren darauf mit folgendem Sekretionsablaufe:

	Hund A.				Hund B.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	0,5	0,004	75	52	7,6	0,0064	85	60
10	0,3				1,0			
10^{30}	0,2				0,6			
11	0,1				0,2			
11^{30}	—				0,2			
	1,1 ccm Gesamtmenge				9,6 ccm Gesamtmenge			

Nach Abklingen der Sekretion um 11½ h erhalten die Tiere um 12 h je 200 ccm Roncegnowasser. Darauf gestaltet sich die Sekretion wie folgt:

[1]) Ich bin zurzeit mit dieser Arbeit beschäftigt.

	Hund A.				Hund B.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	0,3				2,5			
1	0,25				1,2			
1^{30}	0,1	0,002	80	60	0,6	0,004	90	60
2	—				0,2			
2^{30}	—				0,1			
	0,65 ccm Gesamtmenge				4,7 ccm Gesamtmenge			

Versuche vom 28. Juli.

Um 9 h erhalten die Tiere je 200 ccm Wasser; folgende Sekretion:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,3	9^{30}	2,8
0,6	10	1,2
0,4	10^{30}	0,6
0,2	11	0,3
—	11^{30}	0,1
2,5 ccm Gesamtmenge		5,0 ccm Gesamtmenge

Um 12 h erhalten die Tiere eine Mischung von 100 ccm Roncegnobrunnen mit 100 ccm Leitungswasser. Die Werte des Sekretionsvorganges sind die folgenden:

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund B. Saftmenge ccm
1,0	12^{30}	2,2
0,5	1	0,9
0,3	1^{30}	0,4
0,2	2	0,2
—	2^{30}	—
2,0 ccm Gesamtmenge		3,7 ccm Gesamtmenge

Den Einfluß der Verbindung ersehen wir aus den Saftmengen. Während das native, unverdünnte Mineralwasser die Sekretion der Menge nach fast auf die Hälfte reduzierte, so war das bei dem

Gemisch von 1. Brunnen zu 1. Wasser nicht so stark ausgeprägt. Der mitgeteilte Versuch läßt die Saftmengen weniger stark vermindert erscheinen.

IX. Eisenmanganpepton Helfenberg.

Dieses Präparat, als Liquor ferri mangani peptonati Helfenberg bezeichnet, wurde als Objekt gewählt, einmal weil es Eisen und Mangan enthält, deren Wirkung man möglicherweise erkennen konnte. Ferner hatte die Untersuchung ein theoretisches Interesse, ob überhaupt dem Eisen und Mangan in dieser Mischung irgend welche Bedeutung zukomme. Das Präparat stellt eine dunkelbraune, sirupöse Flüssigkeit dar, die einen süßen, aber schwach eisenartig adstringierenden Geschmack besitzt. Nach Angaben der Firma enthält der Saft 0,6% Eisen neben 0,1% Mangan.

Ferner scheint Glycerin oder Zucker sowie Alkohol in dem Gemenge vorzuliegen. Da außerdem Pepton einen Bestandteil bildet, so haben wir ein ganz kompliziertes Gemenge, bei dem für die Sekretion mehreres zu bedenken ist. Einmal wird der vorhandene Süßstoff hemmen, wie durch frühere Untersuchungen an reinen Lösungen gefunden wurde. Die Wirkung des Alkohols ist bereits als eine energisch fördernde erkannt worden, wobei zugleich festgestellt wurde, daß er noch in großer Verdünnung diesen treibenden Effekt enthält und bei Gegenwart kontrastierender Substanzen diese abschwächt und ihre spezifische Wirkung verdeckt.

Schließlich war noch das Pepton als ein Faktor zu bedenken, der die Sekretion mit beherrschte. Daraufhin ließ sich voraussagen: Ist in dem vorliegenden Präparate das Eisen als eine Imitation des organisch gebundenen Eisens der Hämoglobinderivate gedacht, so mochte man die Idee der Zusammenstellung für richtig oder möglich erklären. Bekanntlich gehört der Eisenstoffwechsel ja noch zu den umstrittensten Gebieten der physiologischen Chemie und über eine Resorption und Assimilation anorganischen Eisens liegen so gut wie keine festen Grundlagen vor. Liegt dem Präparate jedoch die Absicht zugrunde, durch das Eisen und Mangan die günstigen Wirkungen auf die Funktion der Drüsen zu steigern, so sehe ich mich zu dem Schlusse gedrängt, daß darin nicht viel Wert liegt. Wie die Versuche zeigen, ist für eine spezifische Eisenwirkung keinerlei Anhaltspunkt gegeben. Das Ab-

klingen der Sekretion ist ein langwieriger Prozeß ohne typische Anhaltspunkte. Die Dauer des Ablaufes wird bedingt durch die Peptonverdauung im Magen, wozu noch die Anregung durch den Alkohol tritt. Die Konzentrationsverhältnisse sind verschoben. Die Acidität in den ersten Portionen ist enorm gesteigert, das Ferment reduziert.

Versuche vom 18. Juli.

Um 9 h erhalten die nüchternen Tiere 200 ccm Wasser, daraufhin folgende Sekretion:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,2				4,0			
10	0,8				2,2•			
10^{30}	0,5	0,004	60	10	0,9	0,004	40	20
11	0,2				0,4			
11^{30}	Spur				0,2			
	2,7 ccm Gesamtmenge				7,7 ccm Gesamtmenge			

Um 12 h erhalten die Tiere 200 ccm des Medikamentes. Daraufhin gestaltet sich die Sekretion wie folgt:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	5,2	0,01	117,5	80	1,2	0,01	107,5	90
1	3,5	0,01	137,5	77,5	6,8	0,01	132,5	70
1^{30}	2,2	0,002	132,25	127,5	3,2	0,01		
2	1,5				2,2	0,01	112,5	102,5
2^{30}	1,2		110		1,5			
3	0,9	0,0064	110	112,5	1,1			
3^{30}	0,5		90•		1,0	0,0064	92,5	70
4	0,3				0,9			
4^{30}	0,2	0,0064	70	20	0,6		80,5	60
5	0,2				0,3			
5^{30}	0,2				0,2	0,0064		
					0,2		50	30
					0,2			

Ein Vergleich der relativen Saftmengen sowie der Dauer zum Zwecke einer Deutung auf Grund treibender Effekte ist zwecklos. Die lange Dauer der Sekretion ist weiter nichts als ein Spiegelbild der Verdauungstätigkeit, welcher das Pepton anheimfällt. Da hinein verschwindet auch die Alkoholwirkung.

Wie wir an diesem Beispiele das Zwecklose des Eisenzusatzes bezüglich sekretionsfördernder Effekte erkennen und somit wenigstens in einer Richtung den Wert dieses wie ähnlicher Präparate nicht hoch veranschlagen, so ersehen wir auch, daß die Methoden, experimentell die Verdauungsvorgänge zu untersuchen, zu eindeutigen Ergebnissen führen, auch da, wo bisher Unklarheit und Empirie das Feld beherrschten. Das Gebiet der Eisenwirkung, als katalytische Beschleunigung der sekretorischen Funktion der Magendrüsen, ist durch vorstehende Versuche in den Umrissen festgelegt. Neben der Erkenntnis des Einflusses, das die Ionen des Eisens (Fe.. Fe...) ausüben, haben wir ein kurzes Bild von den überraschenden Effekten der Metalle gewonnen. Darüber finden sich weitere Versuche in nachstehender Arbeit. Noch ein anderes Problem haben die Prüfungen der Eisensalze ergeben: die anscheinend ganz spezifischen Wirkungen kolloidaler Lösungen, mit denen ich mich weiterhin zu beschäftigen gedenke.

Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Arzneimitteln auf die Magensaftsekretion.

II. Mitteilung.

Über die Wirkung der Metalle.

Von

Johann Feigl.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 3. August 1907.)

Einleitung.

Die nachstehend mitgeteilten Versuche verdanken ihren Ursprung einer in vorhergehender Arbeit gelegentlich des Vergleiches zwischen Eisenchloridlösung und metallischem Eisen in bezug auf ihre Einwirkung auf den Sekretionsvorgang im Magen gemachten Beobachtung. Zur näheren Auseinandersetzung der Sachlage komme ich kurz darauf zurück und erinnere an meinen Befund, wonach eine 0,5 prozentige Ferrichloridlösung eine ausgesprochen hemmende Wirkung auf die sekretorische Funktion der Magendrüsen äußert. Hierbei ließ sich gleichzeitig beobachten, daß die Konzentrationsverhältnisse des sezernierten Saftes, wenigstens in bezug auf Fermentgehalt, fast durchgehend geändert erschienen. Der Saft war im Vergleich zu dem bei der Reaktion auf Wasser (die als normale Sekretion angesehen war) sezernierten in geringerer Menge zur Absonderung gelangt und schien dafür konzentrierter zu sein. Die analytischen Befunde der Fermentbestimmung verdanke ich hier wie dort der bereits erwähnten Methode von E. Fuld. Ganz anders als die eben beschriebenen Versuche fiel das Resultat bei der Einverleibung von metallischem Eisen (als „Ferrum reductum" des Arzneibuches) aus. Wurde 0,5 g dieses Metalles gegeben und gleichzeitig

200 ccm Wasser, so bot sich das bereits beschriebene charakteristische Bild: Die Sekretion setzte energisch ein, indem ein klarer, dünnflüssiger, schleimfreier Saft in großen Mengen abgeschieden wurde. Die Menge der einzelnen zur Messung gebrachten Portionen war relativ groß und das „Abklingen" des gesamten Vorganges erheblich verlängert. Fast immer, aber nicht in allen Fällen, erwies sich dieser Saft in bezug auf Gehalt an Ferment als verdünnter im Vergleiche zu der „normalen" Wassersekretion.

Ein weiterer Anstoß zu der Prüfung der metallischen Elemente im Magen wurde durch die Versuche von Rodari, Zürich, gegeben. Rodari experimentierte im Juni d. J. in der experimentell-biologischen Abteilung gleichfalls an Magenblindsackhunden und untersuchte unter anderem auch metallisches Aluminium. Als Objekt diente ihm das zur Therapie der Hyperacidität verwandte Escalin.

Die Einführung dieses Präparates geht von der Betrachtung des chemischen Verhaltens des Aluminium aus. Löst sich doch das fein verteilte Metall sehr leicht und begierig in selbst sehr verdünnter Salzsäure. Daraufhin konnte dann wohl die Ansicht erklärlich sein, das Aluminium wirke die Säure verzehrend und hemme schon dadurch, mehr aber noch durch die in etwa adstringierend wirkende Salzlösung die Sekretionsvorgänge im Magen.

Allgemeines.

Wie den unten im einzelnen beschriebenen Versuchen zu entnehmen ist, macht das Aluminium unter den metallischen Elementen, die eine ähnliche Löslichkeit in Salzsäure zeigen, nicht nur keine Ausnahme, sondern ist geradezu typisch. Also waren bei den zwei Objekten die gleichen Erscheinungen in erheblicher Übereinstimmung beobachtet worden, und es drängte sich nunmehr die Frage auf, wieweit dieses Verhalten zu verallgemeinern wäre und zu welcher Begründung man experimentell schließlich gelangen würde. Denn daß hierin lediglich die chemischen Eigenschaften maßgebend sein würden, schien einleuchtend. Wollte also eine Deutung gefunden werden, so mußten unsere Objekte herangezogen werden. Dabei ergab sich dann wieder die Möglichkeit, durch Auswahl von Metallen ver-

schiedener Löslichkeit die spezifischen Einflüsse des Individuums zu finden und andererseits das Allgemeine der Erscheinung zu studieren.

Wenn wir nun den Vorgang betrachten und bei dem Beispiel des Eisenpulvers bleiben, so haben wir da ein fein verteiltes Metall, das an sich schon in der — wenngleich ziemlich verdünnten — Salzsäure des Magens leicht löslich ist. Für diesen Vorgang der Lösung sind zwei Umstände wichtig, einmal die feine Verteilung und ferner die Körpertemperatur.

Wir müssen also an eine ziemlich lebhafte Reaktion denken. Wie diese unter den gleichen Verhältnissen in vitro verläuft, zeigen die folgenden Versuche mit metallischem Aluminium.

Aluminiumpulver löst sich in $^1/_{10}$-n. Salzsäure leicht auf, wobei Wasserstoff entsteht und Flocken des Metalles durch die anhängenden Gasblasen mit an die Oberfläche der Flüssigkeit gehoben werden. Setze ich diesen Versuch im Brutschranke an — arbeite also bei Körpertemperatur —, so genügt bei den Mengen, die im Reagensglase in Betracht kommen, bereits zweistündiges Digerieren, um alle Säure zu verzehren (Neutralität gegen Methylorange). Diese Ergebnisse werden in keiner Weise verändert, wenn ich statt der Säure Hundemagensaft (aufgekocht oder nativ) nehme. Entspricht dieser durchschnittlich doch etwa der $^1/_{10}$-n. Salzsäure. Wenn wir nun für die energische Anregung der Drüsentätigkeit nach einer Deutung auf Grund rein chemischer Verhältnisse suchen, so mag man wohl zuerst daran denken, daß der lebhafte Reaktionsvorgang die Ursache ist. Das Metall verzehrt die Säure, diese wird ersetzt, die Salzlösung wird fortgeschwemmt. Bei der Reaktion aber entsteht Wasserstoff. Soll nun dieser speziell eine treibende Wirkung haben, oder ist es bloß das Prickeln der Gasblasen auf der Fläche der Schleimhaut, welche anregt? Wir finden in der Literatur über die Magensaftsekretion einen ähnlichen Fall, nämlich den der Kohlensäure. Wie Weidert und Pincussohn fanden, ist der Kohlensäure ein ähnlicher Einfluß eigen. Ob nun diese Kohlensäure im Wasser gelöst war, oder ob sie im Magen selbst aus einem Carbonate entstand, schien primär nicht wesentlich. Erst wenn das entstehende Salz — Chlorid — eine hemmende Wirkung hat, war auch die Anregung durch die Kohlensäure verdeckt. Dieses lehren uns die

Versuche von H. Rozenblat am Natrium-Bicarbonat, welches hemmend wirkt, von M. Mayeda an dem schließlich treibend wirkenden Lithiumcarbonat, ferner an dem ebenso stimulierenden Calciumcarbonat. Wir sehen also, daß wir mit der Heranziehung des lebhaften Reaktionsvorganges im Magen als Ursache allein nicht weit kommen, und können daher annehmen, es sei das Prickeln — oder präziser ausgedrückt die mechanische Wirkung der Gasblasen. Für diese Anschauung spricht, daß ein in der verdünnten Salzsäure leicht lösliches Metall (z. B. Aluminium) auch eine energische Sekretion provoziert, während trägereagierende oder indifferente (Zinn, Gold) auch keinerlei typischen Einfluß äußern. Was nun aber in letzter Linie die Ursache ist, bleibt einstweilen unentschieden: ob es der gasförmige Wasserstoff als solcher ist, oder das Prickeln der Blasen. Letzteres fällt unter die rein mechanischen Reize, von denen bereits feststeht, daß sie indifferent sind. Wir müssen uns also zu der Deutung entschließen, daß der Wasserstoff als solcher die stimulierenden Effekte bedingt.

Wesentlich für den Ausfall der Versuche ist nun die Form, wie das Metall zur Wirkung gebracht wird. Ich benutzte es stets als feines Pulver, indem ich entweder ein solches Präparat wählte oder mit den bekannten Hilfsmitteln selbst herstellte. Dies war nötig, weil es sich darum handelte, Vergleichswerte zu gewinnen. Und was die feine Verteilung bei allen Lösungsvorgängen ausmacht, ist aus der reinen Chemie her bekannt. So kann man an die enorme Löslichkeit des Zinkstaubes erinnern und zum Vergleich sich die Zinkgranalien vorstellen. Ein wenig geläufiges, aber recht anschauliches Beispiel bietet das Zinn nach Versuchen von Mauthner. Er fand, daß granuliertes Zinn in Mengen von 15 g 12stündiges Erhitzen auf dem Sandbade braucht, um von Salzsäure mittlerer Konzentration gelöst zu werden, während Zinndrehspäne 2—3 Stunden benötigen und Stanniol noch nicht eine halbe Stunde. Wennschon diese Versuche nur für ziemliche konzentrierte Salzsäure unter den äußeren Bedingungen der rein chemischen Laboratoriumsarbeit Gültigkeit haben, so illustrieren sie doch recht deutlich, wie sehr die Löslichkeit eines Metalles mit seiner Verteilung schwankt. Noch ein anderer Umstand verdient erwähnt zu werden, nämlich der, daß die Angreifbarkeit eines Metalles durch Säuren von dem Grade seiner Reinheit

abhängt. Es sei hier des „aktivierten Magnesiums“[1]) sowie des „angeätzten Aluminiums“ gedacht, welche beide bereits heftig mit Wasser reagieren. Ferner nenne ich das Zink, welches chemisch rein gegen Salzsäure erheblich widerstandfähiger ist, so daß man in der Chemie zu künstlichen Verunreinigungen („Verkupfern“ durch Kupferlösung oder Zusatz von Platinlösung) seine Zuflucht nimmt, um seine Angreifbarkeit zu steigern. Diese Umstände ließen mich auf die chemische Reinheit der Metalle erheblichen Wert legen.

Die Wirkung des Metalles im Magen kann man nun von verschiedenen Seiten her betrachten. Einmal: übt das feine Pulver durch seine Gestalt eine rein mechanische Wirkung aus? Diese Frage müssen wir nach Versuchen Bickels verneinen, welcher fand, daß ein chemisch durchaus indifferenter Körper — feines Quarzpulver — absolut reizlos war. Fällt also die rein mechanische Wirkung fort, so bleibt noch zweierlei: nämlich der Vorgang der Lösung durch die Salzsäure, falls das Metall dieser zugänglich ist, und die spezifische Wirkung der entstehenden Salzlösung. Da diese bei meinen Versuchen nirgendwo in die Erscheinung getreten ist, müssen wir auch von ihr absehen. Es ist die Auflösung eben ein langsamer, kontinuierlicher Prozeß, wobei das Chlorid fortgeschwemmt wird und als vorherrschender Eindruck nur die äußeren Erscheinungen der Auflösung bleiben. Mit anderen Worten, wir müssen die Gasentwicklung, die leicht prickelnden Gasblasen auf der Schleimhaut als Ursache ansehen und finden in der Ansicht, daß der Wasserstoff das anregende Moment ist, eine vollkommene Analogie in der bereits untersuchten Kohlensäure.

Experimenteller Teil.

Für die Auswahl von Objekten waren zwei Gesichtspunkte maßgebend: einmal das physiologische Verhalten, welches mich auf manches Interessante verzichten ließ, um nicht die wertvollen Versuchstiere durch Giftwirkung zu schädigen. Ferner mußten Metalle verschiedener Löslichkeit ausgesucht werden. So wurden das praktisch indifferente Zinn wie das völlig inerte Gold geprüft und eine Untersuchung des Platins einstweilen vorbehalten.

[1]) Bayer B. 39.

Möglich ist, daß dieser durch seine vielseitigen katalytischen Wirkungen ausgezeichnete Körper auch hier zu abweichenden Ergebnissen führt.

Versuche wurden angestellt mit Eisen, Magnesium, Mangan, Zinn, Wismut, Silber, Gold.

Technik der Experimente.

Die Ausführung der Versuche sei kurz angegeben. Es wurde an Pawlow-Hunden mit einem Magenblindsacke in bekannter Weise experimentiert. Den nüchternen Hunden wurden 200 ccm Wasser verabreicht. Nun setzte eine Sekretion ein, die durchschnittlich in 2 Stunden abgeklungen war. Diese „Wassersekretion" wurde als Norm angesehen und auf sie der Sekretionsvorgang nach Einverleibung des Pulvers in bezug auf Zeit, Saftmenge und Saftkonzentration bezogen. Die Portionen wurden halbstündlich abgenommen, gemessen und einer analytischen Prüfung unterworfen. Nunmehr wurde der zu untersuchende Stoff gegeben, was im vorliegenden Falle technisch nicht ganz einfach ist. Wenn man bedenkt, daß die Metalle zu je 0,5 verwandt wurden, und daß dieses Quantum bei spezifisch schweren Metallen bereits gering ist, so mußte zur möglichsten Ausschaltung von Versuchsfehlern vorsichtig verfahren werden. Mit der bekannten Schlundsonde kommt man in der gewöhnlichen Weise nicht zum Ziele. Wird dagegen die Sonde an ihrem geschlossenen Ende noch mit einer Einkerbung versehen, so macht es keine Schwierigkeit, mit der zum Versuche benötigten Wassermenge (200 ccm) alles Metallpulver in den Magen hinabzuspülen.

Über die Vorbereitung des Materials sei gesagt, daß ich feine Pulver (Silber, Gold) ohne weiteres verwandte, daß ich Zinn und Magnesium durch Absieben auslas und Mangan und Wismut durch Zerreiben in der Achatschale pulverisierte und demnächst die gröberen Bestandteile des Pulvers gleichfalls durch Absieben ausschied.

I. Versuche über metallisches Eisen.

Im einzelnen findet sich die Diskussion, Versuche über die Wirkung metallischen Eisens sowie analytische Tabellen dazu bereits in vorhergehender Abhandlung. Als Vergleichsobjekt führe ich hier einen typischen Versuch nochmals an:

Versuch vom 9. Juli.

Beginn um 9 h. Es werden je 200 ccm Wasser an die nüchternen Tiere verfüttert.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9^{30}	1,2				5,0			
10	0,8				2,3			
10^{30}	0,5	0,004	60	40	0,8	0,0064	50	30
11	0,2				0,5			
11^{30}	—				0,3			
	2,7 ccm Gesamtmenge				8,9 ccm Gesamtmenge			

Nach Abklingen der Sekretion wird um 12 h 0,5 g Eisen mit 200 ccm Wasser gegeben, worauf folgende Sekretion einsetzt:

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
12^{30}	2,5	0,01	55	25	8,5	0,01	40	20
1	1,4	0,01	60	30	5,5	0,01	40	25
1^{30}	1,1				4,8	0,008	45	25
2	1				2,5	0,008	45	30
2^{30}	0,7				2	0,0064		
3	0,5	0,006	65	35	1,8	0,0064	45	35
3^{30}	0,2				2,2	0,0064		
4	Spur				1,7	0,0064		
4^{30}					1			
5					0,5		70	45
5^{30}					0,3	0,0064		
6					0,2			
					0,1			
	7,4 ccm Gesamtmenge				31,1 ccm Gesamtmenge			

II. Manganmetall.

Hierzu liegen zwei Versuche vor (12. Juli). Es gelangten zur Anwendung 0,5 g Mangan, das von Kahlbaum bezogen und von mir durch Pulvern in der Achatschale und Absieben in die gewünschte Form gebracht wurde. Die Versuche gestalteten sich wie folgt:

Zeit	Hund A. Saft ccm	Hund A. Pepsin	Hund A. Gesamt-Acidität	Hund A. Freie HCl	Hund C. Saft ccm	Hund C. Pepsin	Hund C. Gesamt-Acidität	Hund C. Freie HCl
9	200 ccm Wasser				200 ccm Wasser			
9^{30}	1,0				3,2			
10	0,8				1,1			
10^{30}	0,5	0,0064	60	40	0,6	0,0064	40	30
11	0,2				0,3			
11^{30}	—				—			
	2,5 ccm Gesamtmenge				5,2 ccm Gesamtmenge			
12	200 ccm Wasser + 0,5 g Urin				200 ccm Wasser + 0,5 g Urin			
12^{30}	3,5	0,0064			7,5	0,0064		
1	2,5				6,5	0,01		
1^{30}	1,2				3,8			
2	1		85	45	2,5		115	110
2^{30}	0,9	0,0064			1,5			
3	0,5				0,7	0,01		
3^{30}	0,2				0,3			
4	—				Spur			
	9,8 ccm Gesamtmenge				22,8 ccm Gesamtmenge			

Wir entnehmen diesen Versuchen eine Steigerung der Saftmenge um das Vierfache und sehen auch die Aciditätswerte in etwas gesteigert.

III. Magnesium.

Zum Studium der Wirkung dieses Metalls liegen vier Versuche vor. Verfüttert wurde je 0,5 g Magnesiumpulver, das durch Absieben möglichst von gröberen Partikelchen befreit war. Die analytischen Befunde teile ich aus Gründen der Raumersparnis nur bei den Versuchen vom 11. Juli mit.

Versuche vom 10. Juli.

Hund A. Saftmenge ccm	Zeit	Hund C.[1] Saftmenge ccm
200 ccm Wasser	9	200 ccm Wasser
3,0	9^{30}	6,5
1	10	2,5
0,7	10^{30}	1,8
0,5	11	1,5
0,3	11^{30}	1
—	12	—
5,5 ccm Gesamtmenge		13,3 ccm Gesamtmenge

[1]) Der Hund C, welcher nicht nüchtern, war erhielt zur Kompensation 0,5 g Mg mit 10 ccm Wasser.

200 ccm Wasser + 0,5 g Mg	12^{30}	210 ccm Wasser + 0,5 g Mg[1])
3,6	1	10,5
1,5	1^{30}	5,2
1,5	2	6,5
0,9	2^{30}	1,5
0,4	3	0,5
0,2	3^{30}	0,5
	4	0,2
8,1 ccm Gesamtmenge		24,9 ccm Gesamtmenge

Versuche vom 11. Juli.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9	200 ccm Wasser				200 ccm Wasser			
9^{30}	3,6				4,8			
10	0,7				0,7			
10^{30}	0,5	0,004	60	40	0,8			
11	0,2				0,5	0,0064	60	40
11^{30}	—				0,3			
12	—				Spur			
	5,0 ccm Gesamtmenge				7,1 ccm Gesamtmenge			
12^{30}	200 ccm Wasser + 0,5 g Mg				200 ccm Wasser + 0,5 g Mg			
1	6,5	0,01	85	65	9,5	0,01	80	60
1^{30}	3,2	0,01			5,0	0,01	80	60
2	1,8	0,01	90	70	2,5	0,01	80	65
2^{30}	1,2	0,0064			1,2	0,0064		
3	1,5	0,0064			0,7	0,0064	75	—
3^{30}	0,8	0,005			0,9	0,0064		
4	0,5	0,005	80	60	0,5	0,0064	75	60
4^{30}	0,1				0,3			
5	Spur				0,1	0,0064	75	60
5^{30}					Spur			
	15,6 ccm Gesamtmenge				20,7 ccm Gesamtmenge			

Die Versuche geben eine Steigerung der Sekretion um das Doppelte bis Dreifache. Der Fermentgehalt ist vermindert, der Gehalt an Säure wenig gesteigert.

---

[1]) Der Hund C, welcher nicht nüchtern war, erhielt zur Kompensation 0,5 g Mg mit 10 ccm Wasser.

IV. Zinn.

Zwei Versuche vom 13. Juli wurden ausgeführt mit reinem Zinn von Kahlbaum. Dieses als „zerrieben“ bezeichnete Material war ein mattglänzendes Pulver, das durch Sieben von größeren Bestandteilen befreit wurde.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9	200 ccm Wasser				200 ccm Wasser			
9^{30}	1,5				3,0			
10	0,7				1,3			
10^{30}	0,5	0,004	30	20	0,8	0,0064	70	35
11	0,2				0,3			
11^{30}	—				0,1			
	2,9 ccm Gesamtsekretion				5,5 ccm Gesamtsekretion			
12	0,5 g Sn per + 200 ccm Wasser				0,5 g Sn per + 200 ccm Wasser			
12^{30}	1,0	0,004			4,0	0,0064		
1	0,8				1,2			
1^{30}	0,3		25	20	0,6		55	30
2	0,2	0,004			0,3	0,0064		
2^{30}	0,2				0,2			
3	Spur				Spur			
	3,1 ccm Gesamtsekretion				6,3 ccm Gesamtsekretion			

Die Versuche ergeben eine praktisch durchaus nicht ins Gewicht fallende minimale Anregung, die in der ersten Portion, namentlich beim Hund C, ersichtlich wird. Wie wir aus diesem rein biologischen Beispiele sehen, ist das Zinn nicht durchaus indifferent gegen verdünnte Salzsäure. Zinn bietet uns also ein willkommenes Beispiel für ein träge lösliches Metall. Interessant scheint andererseits die Abnahme der Gesamtacidität wie auch der freien Salzsäure. Bei beiden Hunden ist dies ersichtlich. Sollte es vielleicht im Zusammenhang mit der adstringenden Wirkung von Zinnlösungen zu deuten sein?

V. Wismut.

Zwei Versuche, zu denen reines Wismut von Kahlbaum diente (das Metall war in einer Achatschale gepulvert worden), wurden unmittelbar anschließend an die Versuche über Zinn —

am 13. Juli — ausgeführt und hatten das bereits vorausgesehene Ergebnis: völlige Indifferenz des Wismuts.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
3^{30}	200 ccm Wasser + 0,5 g Bi				200 ccm Wasser + 0,5 g Bi			
4	1,3				3,5			
4^{30}	0,7				1,1			
5	0,5	0,004	35	25	0,6	0,0064	55	35
5^{30}	0,2				0,2			
6	Spur				Spur			
	2,7 ccm Gesamtmenge				5,4 ccm Gesamtmenge			

VI. Silber.

Über das Silber liegen vier Versuche vor. Als Material diente das gefällte, sogenannte „molekulare" Silber von Kahlbaum. Es ist ein lockeres, zusammenhängendes, mattglänzendes Metallpulver. Farbe das spezifische „Silbergrau".

Versuche vom 14. Juli.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9	200 ccm Wasser				200 ccm Wasser			
9^{30}	2,2				4,5			
10	1,2				1,2			
10^{30}	0,5	0,004	70	30	0,5	0,004	60	30
11	0,3				0,2			
11^{30}	Spur				Spur			
	4,2 ccm Gesamtmenge				6,4 ccm Gesamtmenge			
12	200 ccm Wasser + 0,5 g Ag				200 ccm Wasser + 0,5 g Ag			
12^{30}	2,2				4,5			
1	1				1,3			
1^{30}	0,6	0,0064	70	20	0,6	0,004	65	20
2	0,3				0,2			
2^{30}	0,1				Spur			
3	—				—			
	4,2 ccm Gesamtmenge				6,6 ccm Gesamtmenge			

Wie wir sehen, halten sich also die Mengen Saft einerseits von der „Wassersekretion“, andererseits von der Sekretion unter dem Eindrucke des Silbers mit Wasser völlig die Wage. Der Saft ist quantitativ und auch qualitativ jedenfalls in bezug auf Fermentgehalt als der gleiche anzusehen. Recht interessant ist das Zurückgehen des Anteils der freien Salzsäure. Dafür läßt sich einstweilenein zureichender Grund nicht angeben, scheinbar reicht zur Deutung dieser Erscheinung die chemische Betrachtung an sich nicht aus. Möglich ist andererseits, daß der Status der Tiere an diesem Tage ein derartiger war, daß er zu dieser Eigenschaft disponierte. Dem Versuchsobjekt der vorigen Tage kann gleichfalls die Schuld hierfür nicht beigemessen werden.

VII. Gold.

Als wesentlichstes Beweismaterial für die Ansicht, daß die Lebhaftigkeit des Sekretionsvorganges im Magen gewissermaßen eine Funktion der individuellen Löslichkeit der Metalle in $^{1}/_{10}$-n. Salzsäure ist, waren Versuche mit Gold ins Auge gefaßt worden. Beim Golde, dem indifferentesten und dabei — im Gegensatz zum Platin — von katalytischen Wirkungen freien Metalle, mußten wir einen Sekretionsverlauf bekommen, der mit der Wassersekretion identisch war. Man konnte voraussagen, daß nicht nur die Mengen, sondern auch die Konzentrationsverhältnisse gleich ausfallen würden. Dieses hat sich nun tatsächlich bewahrheitet.

Es liegen vor zwei Versuche vom 16. Juli. Zu dem Versuche am Hunde muß noch kurz notiert werden, daß ein kleiner Zufall die Zahl 2,0 = 2. Portion der „Wassersekretion“ um 10 h zur Folge hatte. Der Hund war momentan durch vorbeigetragenes Futter in einen sehr kurzen Erregungszustand versetzt worden, und es ist diese Zahl (man vergleiche den Verlauf der Wassersekretion mit dem an den vorigen Tagen, und man wird schon dadurch auf das Zufällige hierbei hingeführt werden) durchaus als ein Ergebnis psychischer Beeinflussung anzusehen.

Zum Versuche diente Gold, „gefällt“ von K a h l b a u m, ein lockeres, mattgelbes, zusammenhängendes Metallpulver.

	Hund A.				Hund C.			
Zeit	**Saft** ccm	**Pepsin**	**Gesamt-** Acidität	Freie HCl	Saft ccm	Pepsin	Gesamt-Acidität	Freie HCl
9	200 ccm Wasser				200 ccm Wasser			
9^{30}	2,2				4,5			
10	2,0				1,2			
10^{30}	1,2	0,0064	65	35	0,5	0,004	75	55
11	0,5				0,2			
11^{30}	0,3				Spur			
	5,2 ccm Gesamtmenge				6,4 ccm Gesamtmenge			
12	0,5 g Au + 200 ccm Wasser				0,5 g Au + 200 ccm Wasser			
12^{30}	2,3				4,4			
1	1,3				1,3			
1^{30}	0,4	0,0064	70	35	0,6	0,004	72	55
2	0,2				0,2			
2^{30}	Spur				Spur			
3								
	4,2 ccm Gesamtmenge				6,5 ccm Gesamtmenge			

Zusammenfassung.

Wenn wir das vorstehend beschriebene Versuchsmaterial überblicken, so läßt sich das Folgende als Resultat ableiten.

Einmal haben wir gesehen, daß zur Erklärung des Verhaltens metallischer Elemente im Magen die Kenntnis des chemischen Verhaltens — im speziellen Falle der Löslichkeit oder Beständigkeit in ca. $^1/_{10}$-n. Salzsäure — ausreicht. Wenn wir ein Metallpulver im Magen einen heftigen Reaktionsvorgang und reichliche Saftproduktion provozieren sehen, so geschieht das darum, weil das betreffende Metall sich leicht in der Säure löst und dabei Wasserstoff entwickelt. Daß wir in diesem schließlich die Ursache und die treibende Kraft sehen, soll noch einmal gesagt werden. Ebenso will ich nochmals des Vergleiches mit der Kohlensäure unter ähnlichen Umständen gedenken. Als wesentliches Resultat können wir hier aussprechen, daß die Ansicht, ein Metall, z. B. Aluminium, wirke salzsäureverzehrend und hemmend auf die Tätigkeit der Magendrüsen, für verfehlt gelten kann. Ferner wollen wir hierbei noch des großen Unterschiedes gedenken, der in der Salzsäurebindung durch ein Metall, verglichen mit einer Base, liegt. Eine schwache, milde Basis, z. B. Magnesia usta,

neutralisiert ohne jede lebhafte Reaktionserscheinung auch im Magen die Salzsäure. Grundverschieden ist das bei einem Metalle, z. B. Eisenpulver, wie wir gesehen haben. Und noch eines: Vergleiche zwischen der Wirkung der Metalle an sich und ihrer Lösungen habe ich nirgendwo gefunden. Von den in zwei Richtungen sich äußernden Einflüssen wird bei Verwendung des Metallpulvers die Salzwirkung ohne weiteres verschluckt.

Auch ein praktisches Ergebnis, das für die Behandlung der Hyperacidität nicht gegenstandslos sein dürfte, liegt darin, daß die oben erörterte fälschliche Theorie der Metallwirkung, wie sie in Gestalt des Escalins in der Therapie realisiert worden ist, für widerlegt gelten kann. Hierzu treten als willkommene Ergänzung Versuche am Menschen, die von E. Müller in diesem Institut an einem mit Ösophagus- und Magenfistel versehenen Individuum ausgeführt wurden und das gleiche Resultat erzielten.

Differentialanalysen von Menschenblut, Ochsen- und Pferdeblut sowie Punktionsflüssigkeiten.

Von

Fr. Landolf.

(Aus dem Centrallaboratorium der Nationalklinik und dem chemischen Universitätsinstitut von La Plata, Buenos Aires.)

(Eingegangen am 8. Juli 1907.)

Meine neue Analysenmethode, die ich schon beim Studium der verschiedenen Zuckerarten im diabetischen Harne, beim Studium des Magensaftes, der Milch, des Hopfens und verschiedener Medizinalpflanzen usw. mit gutem Erfolge angewandt habe, wurde auch vor einiger Zeit in Übereinstimmung mit Herrn Prof. Dr. Abel Ayerza auf das Blut verschiedener Kranken in der Nationalklinik von Buenos Aires ausgedehnt. Die nunmehrigen Resultate haben meine Erwartungen vollauf bestätigt, da nach den nun vorliegenden es nicht nur möglich ist, das Blut verschiedener Krankheiten auf diese Weise zu differenzieren, sondern auch bei einer und derselben Krankheit den Verlauf nach dem Analysenresultat zu verfolgen.

Diese meine differenzielle Methode wurde bis jetzt natürlich von niemanden auf das Blut usw. angewandt, so daß es unnötig ist, über diesen Gegenstand in der Literatur lange nachzuforschen.

Außerdem findet man in dieser Arbeit analytische Methoden, die nur nach längerem Studium die gewünschte Genauigkeit erreichten, wie z. B. die Bestimmung des Gesamtstickstoffes, die sichere und fehlerfreie polarimetrische Ablenkung, die genaue Bestimmung der gesamten stickstoffhaltigen Substanzen des Blutes als solche, ohne daß dieselben irgend welche erheblichen Veränderungen erlitten haben usw.

Die Analyse von Blut als solchem ist unzulässig, dasselbe muß verdünnt werden. Ich habe die Verdünnung auf ein Fünftel

zweckentsprechend gefunden und die Analysen mit je 25 ccm Blut, verdünnt auf 125 ccm, oder aber noch besser, mit 50 ccm Blut, verdünnt auf 250 ccm, ausgeführt. Man sieht sogleich, daß für derartige Analysen einige Tropfen Blut nicht ausreichen, und daß man wenigstens über 25 ccm frischen Blutes verfügen muß.

Die Analysen wurden immer mit defibriniertem, möglichst vom Serum befreiten Blute ausgeführt, aber immer unter denselben Bedingungen. Doch ist es sehr erwünscht und jedenfalls gleichzeitig von Wichtigkeit, das Serum ebenfalls der gleichen Differentialanalyse zu unterziehen, um ein vollständiges Bild von der Blutalterationen in diesem Falle zu gewinnen, wozu mir jedoch leider die Zeit fehlte, und was somit auf später verschoben werden muß.

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffes wurde nach Kjeldahl und mit dem sehr genauen Ureometer von Albert Robin ausgeführt, wobei der erhaltene Stickstoff, sobald das Volumen konstant war, auf 0° und 760 mm Druck reduziert und für 1000 ccm N das Gewicht von 1,256 g angenommen wurde.

Für jede Bestimmung wurden 10 ccm auf ein Fünftel verdünntes Blut angewendet und in einem kleinen Kolben, wie die Goldfesker sie brauchen, über der Bunsenflamme mit 2—3 ccm Nordhäuser Schwefelsäure verbrannt. Das Blut ist nur schwierig auf diese Weise rein farblos zu erhalten, und es ist nötig, um dies zu erreichen, zum Schluß etwas Phosphorsäureanhydrid hinzuzufügen und dann mit dem Erhitzen noch so lange fortzufahren, bis die rückständige Flüssigkeit vollständig oder doch fast vollständig farblos ist. Nach dem Erkalten wird dann mit Wasser zu 20 ccm verdünnt. Nun entnimmt man 5 ccm und sieht mit 40prozentiger Natronlauge und mit Phenolphthalein als Indicator nach, wieviel Tropfen Natronlauge nötig sind, um die Sättigung herbeizuführen. Hierauf nimmt man von den 15 ccm übrigbleibender Flüssigkeit 10 ccm, entsprechend 5 ccm auf ein Fünftel verdünnten Blutes und gibt unter guter Abkühlung unter einem Wasserstrahle in einem kleinen Fläschchen, das mit dem Finger leicht verschlossen werden kann, tropfenweise und unter beständigem Umschütteln die Natronlauge hinzu, aber nicht bis zur vollständigen Sättigung, so daß die Flüssigkeit noch stark sauer reagiert. Geht man mit der Sättigung so weit,

daß die Flüssigkeit, wie beim Vorversuch, rosa gefärbt wird, so hat man immer einen Verlust an Stickstoff, und in manchen Fällen sogar einen ganz bedeutenden Verlust an Stickstoff zu bedauern, so daß die Analysenresultate unter allen Umständen unrichtig sind, da dann natürlich zu wenig Stickstoff gefunden wird. Dies ist der Grund, warum bei dieser Art der Kjeldahlschen Methode, wenn diese Vorsicht nicht beobachtet wird, der Stickstoff fast immer zu niedrig ausfällt.

Die Analysenniederschläge wurden immer auf Filter von Schleicher und Schüll gesammelt, so daß die Aschen dieser Niederschläge fast ausschließlich aus den mineralischen Bestandteilen des Blutes, und zwar vorzugsweise aus Eisenoxyd, bestehen.

Die Reduktion wurde immer mit frisch bereiteter Fehlingscher Lösung ausgeführt, andernfalls die Resultate unrichtig werden könnten, in Anbetracht der geringen Quantität Blut, 2 ccm auf ein Fünftel verdünnt, die bei dieser Bestimmung Verwendung findet.

Sämtliche Filter werden bei 95° C während 12 Stunden getrocknet und in einem hermetisch verschlossenen Gefäße gewogen, um jede Feuchtigkeitsabsorption zu vermeiden.

Die polarimetrischen Beobachtungen werden mit dem Wildschen Polaristrobameter ausgeführt. Das kleine Modell ist dazu sehr geeignet, und die Ablesung ist noch sicher mit Inversionsflüssigkeiten im „grauen“ oder „antipolaren“ Zustande.

Die Inversion, d. h. die Hydrolyse, wird mit 50 ccm oder mit 100 ccm Blut zu ein Fünftel verdünnt, in offenen oder vor der Lampe zugeschmolzenen Gefäßen im Wasserbade durch 7-stündiges Erhitzen zum Sieden ausgeführt. Auf 50 ccm zu ein Fünftel verdünntem Blute werden 2,5 ccm konzentrierte reine Salzsäure angewendet, oder auf 100 ccm 5 ccm Salzsäure. Wird weniger wie 2,5 ccm Salzsäure auf 50 ccm auf ein Fünftel verdünnt verwendet, so ist die Hydrolyse nur unvollständig und die Filtration ist in diesem Falle langsam und schwierig.

Die Hydrolysenflüssigkeit kann nicht direkt in dem Polaristrobometer geprüft werden, selbst wenn dieselbe zu verschiedenen Malen filtriert worden und vollständig klar ist, da sie einen ganz besonderen und eigentümlichen Zustand darbietet, derart, daß das weiße Licht gut und unverändert, das polarisierte Licht dagegen nur schwierig oder auch gar nicht hindurchgeht. Die

Inversionsflüssigkeiten, herrührend von Milch, von Blut usw., filtrieren durch gutes Filtrierpapier freilich klar und farblos, aber mit einem eigentümlichen grauen Farbentone, sagen wir mit einer schattenartigen Transparenz. Etwas ähnliches wie bei diese Flüssigkeiten finden wir für die Luft in heißen Sommertagen auf hohen Bergesgipfeln eine schwache Verdüsterung der Atmosphäre, hervorgerufen durch die Anwesenheit fast molekularer, aber denn doch noch materieller Partikelchen. Etwas derartigem begegnen wir auch bei der blauen Farbe des Himmels, die nach R. Clausius den gleichen Grund haben soll.

In unserem Falle löst zwar die Salzsäure das Casein, das Albumin, das Hämoglobin usw. usw., aber diese Lösung ist nicht vollständig, und es bleiben minimale Partikelchen in Suspension, die das weiße Licht zwar als solches durchlassen, aber ihm einen besonderen grauen Farbenton verleihen, welcher den Durchgang des polarisierten Lichtes hindert.

Diesen spezifischen Zustand der Hydrolysenflüssigkeiten wollen wir mit dem Worte „grauer Zustand“ oder auch als „antipolaren Zustand“ bezeichnen, nach der Farbe der Flüssigkeit und nach seinem optischen Verhalten gegen polarisiertes Licht.

Diese grauen Inversionsflüssigkeiten können im Polarimeter geprüft werden, wenn wir sie mit Tierkohle oder mit Talk vorher möglichst klären. Es sind dieselben dann vollständig klar und fast farblos, aber haben immer noch einen sehr leichten grauen Schattenton, der dem polarisierten Licht eine intensive rote Farbe, oder doch wenigstens eine pfirsichblütenrote Farbe verleiht.

Die von der Gesamtbestimmung der stickstoffhaltigen Substanzen herrührenden Filtrierflüssigkeiten sind immer vollständig farblos und die Asche des Trockenrückstandes ist weiß, enthält somit kein Eisen mehr, sondern nur Kali, Natron und die übrigen Mineralsalze.

Die den Gesamtstickstoff, den Stickstoff der peptonartigen Körper repräsentierenden Substanzen, — auf einem gewogenen Filter gesammelt und bei 95° C getrocknet und gewogen — sind glänzend und schwarz und enthalten das Gesamteisen des Bluthämoglobins, das auf diese Weise durch Einäschern der Masse genau bestimmt werden kann. Der Rückstand besteht dann aus reinem Eisenoxyd.

In dieser durch Filtration von dem größten Teile der stickstoffhaltigen Substanzen getrennten Flüssigkeit finden wir neben den alkalischen Salzen noch eine gewisse Quantität anderer stickstoffhaltiger, aber peptonartiger und mit Salzsäure nicht koagulabler Substanzen. Da diese Flüssigkeit vollständig farblos ist, so ist es ein leichtes, die polarimetrische Ablenkung mit Sicherheit zu bestimmen, und angenommen, daß 1 g peptonartiger Substanzen per Liter das polarisierte Licht in der 20 cm-Röhre um einen Grad nach links ablenkt, so muß man diese Ablenkung zu der unlöslichen Totalalbuminmenge auf dem Filter addieren, um die Gesamtmasse der stickstoffhaltigen Substanzen im Blute zu haben.

Da wir immer unter gleichen Bedingungen arbeiten, so ist der gemachte Fehler, herrührend von der unvollständigen Kenntnis dieser nicht fällbaren stickstoffhaltigen Körper mit Salzsäure und deren unbekannten optischen Ablenkung von nur untergeordneter Bedeutung bei der Interpretation des Analysenresultates.

Ein Gramm käufliches Pepton von Witte gibt per Liter und bei 15° C im 20 cm-Rohr eine Ablenkung nach links von 0,5905 Graden und in 80° C heißer Lösung bloß noch eine solche von 0,5748 Graden.

Für verschiedene Albumine von Punktionsflüssigkeiten ist diese Ablenkung für 1 g im 20 cm-Rohr gleich 0,6024 Grade.

Da die in Frage stehenden Stickstoffsubstanzen wahrscheinlich den Hemialbumosen oder Propeptonen angehören, so ist es ziemlich wahrscheinlich, daß dieselben per Gramm und per $^0/_{00}$ nahezu einen Grad nach links ablenken, wie ich dies bereits oben angenommen habe, welche Zahl mir freilich zu hoch gegriffen scheint, aber der Bequemlichkeit halber vorläufig beibehalten werden soll.

Was die Bestimmung des Harnstoffes im Blute anbelangt, so ist dieselbe etwas unsicher, da die Stickstoffentwicklung mit Natriumhypobromit lange andauert, wohl infolge des langsamen Freiwerdens des Stickstoffes aus Ureiden und ähnlichen Körpern.

Da der Stickstoff des Harnstoffes mit Hypobromit momentan frei wird, so nehme ich das Volumen nach 10 Minuten als das dem Harnstoffe entsprechende an, während das Volumen nach 6 bis 12 Stunden das Volumen des Stickstoffes, aus Harnstoff und den

Ureiden repräsentiert. Die Differenz gibt somit den Ureidstickstoff an.

Die Gärung wurde immer mit frischer Bierhefe und sogleich nach deren Empfang ausgeführt. Es ist dieselbe in 24 Stunden fast immer vollständig beendigt. Das Volumen der erhaltenen Kohlensäure nach dem Ablauf des Quecksilbers gemessen und auf 0° und 760 mm Druck reduziert, gibt dann umgerechnet genau die Menge der gärungsfähigen Kohlenhydrate an.

Die zwischen den verschiedenen Analysenzahlen bestehenden Verhältnisse bezeichne ich wie folgt:

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung.

Verhältnis zwischen den unlöslichen Albuminaten und der polarimetrischen Ablenkung der von dem ungelöst gebliebenen Teil durch Filtration getrennten Inversionsflüssigkeit.

2. Inversionsstickstoffbeziehung.

Verhältnis zwischen den auf dem Filter gebliebenen unlöslichen stickstoffhaltigen Substanzen und dem Gesamtstickstoff der Inversionsflüssigkeit in Albumin umgerechnet.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit.

Beziehung zwischen der polarimetrischen Ablenkung der Inversionsflüssigkeit und dem Gesamtstickstoff dieser Flüssigkeit in Albumin umgerechnet.

4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen.

Verhältnis zwischen dem Trockenrückstand der Inversionsflüssigkeit, der unlöslichen stickstoffhaltigen Substanzen und dem Gesamttrockenrückstande des Blutes.

Ich bezeichne mit „Blutabnutzung" das Verhältnis zwischen dem Gesamtstickstoff des Blutes, berechnet in Albumin, und den stickstoffhaltigen Substanzen, direkt als solche bestimmt, vermehrt um die polarimetrische Ablenkung der von der direkten Bestimmung der stickstoffhaltigen Substanzen herrührenden filtrierten Flüssigkeit. Je größer diese Differenz ist, desto größer ist die Blutabnutzung, d. h. desto intensiver ist der regressive Stoffwechsel der Albuminate gegen die Grenzstoffe, also gegen Harnstoff und gegen Ureide hin usw. Dieser Koeffizient z. B. ist ein Fünftel in der parenchymatösen akuten Nephritis. In der interstitiellen und chronischen Nephritis finden wir dagegen

die Gesamtalbuminmenge etwas höher als wie die Menge Albumin berechnet aus dem Gesamtstickstoffgehalt des Blutes, was freilich etwas anomal zu sein scheint. Weitere Untersuchungen werden uns lehren, ob das überhaupt möglich ist oder ob irgendwo eine Fehlerquelle vorliegt, die vorderhand übersehen itt trotz der Überzeugung, daß die Bestimmung des Gesamtstickstoffes ohne den geringsten Verlust stattfand.

Wie können wir diese Tatsache erklären? Es ist das etwas schwierig, wenn wir nicht annehmen, daß sich im Blute stickstoffhaltige Substanzen befinden, wie das Neurokeratin, dessen Stickstoffgehalt zwischen 11,40 und 14,32% schwankt, also im Mittel ungefähr 12,50% ist, was den 8. Teil per cent repräsentiert. In diesem Falle muß ein Teil des Gesamtstickstoffes statt mit 6,25, mit 8 multipliziert werden, was die Albuminoide natürlich dann bedeutend vermehren würde. Übrigens haben wir noch andere Körper, wie das Hämatogen: N = 14,73%; die Mucine: N = 11,75 bis 13,67%; das Metalbumin: N = 10,26%; das Glukoproteid: N = 6,08% und andere mehr, die im Molekül bedeutend weniger Stickstoff enthalten als die Albumine und die Proteide. Derartige Substanzen können nun im Blute kranker Menschen und Tiere sehr wohl in einigermaßen bedeutender Menge vorkommen, und auf diese Weise würde sich die vorherige anscheinende Anomalie erklären lassen.

Werfen wir nun einen Blick auf die Analysenresultate, so sehen wir sogleich, daß das Albumin der Punktionsflüssigkeiten gegen Salzsäure viel widerstandsfähiger ist als das Hämoglobin und das Albumin des Blutes. Außerdem wird die Polarität des Albumins der Punktionsflüssigkeiten durch die Inversion vollständig aufgehoben, während dies beim Hämoglobin des Blutes nicht der Fall ist. Dieser Unterschied ist bemerkenswert, und wir werden uns später desselben bei weiteren Untersuchungen bedienen.

Was das Blut der verschiedenen Kranken anlangt, so bemerken wir, daß die Resistenz des Hämoglobins sehr verschieden ist, je nach der Krankheit und dem Grade derselben, wie beispielsweise bei der parenchymatösen akuten Nephritis, wo die Menge des unlöslichen Hämoglobins und des Albumins dreimal größer ist als bei der interstitiellen chronischen Nephritis von langer Dauer und mit letalem Ausgange, während für die parenchymatöse

chronische Nephritis diese Differenz für den ersten Grad der Inversion klein, für den zweiten Grad der Inversion schon bedeutend größer wird.

Bei der parenchymatösen akuten und chronischen Nephritis ist die Differenz für den ersten Grad der Ansäuerung nur gering, während sie für den zweiten Grad schon bedeutender wird.

Was die Gärung betrifft, so ist die Differenz zwischen der parenchymatösen chronischen Nephritis und der parenchymatösen akuten Nephritis sehr groß, da die Inversionsflüssigkeit der ersteren eine große Menge gärungsfähigen Zuckers aufweist, während die Inversionsflüssigkeit der letzteren nur sehr wenig gärungsfähigen Zucker liefert.

Bei der Hepatitis oder Leberentzündung sehen wir, daß das hydatische eiternde Cyst von sich von der fetten alkoholischen Serosis dadurch unterscheidet, daß bei der ersteren die Menge ungelöster Albuminate doppelt so groß ist, und daß infolgedessen die polarimetrische Ablenkung der Inversionsflüssigkeit ums doppelte geringer ausfällt. Außerdem konstatieren wir, daß bei der fetten alkoholischen Serosis die Menge der reduzierenden Substanzen des Blutes, bei einen geringeren Trockenrückstand mehr als doppelt so groß ist wie die Menge der reduzierenden Substanzen im Blute des eiternden hydatischen Cystes. Somit ist hier die Differenz für diese Substanz ganz bedeutend, während für die übrigen Verbindungen dieselbe nur gering ist.

Was die beiden Fälle von Uremie angeht, so sind die Resultate so ziemlich dieselben, mit Ausnahme jedoch der Gärung; die Inversionsflüssigkeit der Uremie vom 4. Dezember es gibt nichts bei der Gärung, während dieselbe Flüssigkeit bei der Uremie vom 11. Dezember eine nicht unbedeutende Menge gärungsfähigen Zuckers liefert.

Was den „schwarzen Kardiaker“ von Abel Ayerza betrifft, so sehen wir sogleich, daß das frische Blut eine sehr große Menge reduktionsfähiger Substanzen enthält. Diese Substanzen werden bei der Hydrolyse zerstört und werden dann teilweise ersetzt durch jetzt gärungsfähige Kohlenhydrate. Außerdem ist die Verflüchtigung beim Eindampfen auf dem Wasserbade zur Bestimmung des Trockenrückstandes außerordentlich groß, und diese Verflüchtigung ist ebenfalls bedeutend

für die gleiche Flüssigkeit von einem anderen Kranken vom 9. August; somit ist es wahrscheinlich, daß der letzte Kardiaker ebenfalls eine Art von „Cardiaco negro" repräsentiert.

Die chemische Zusammensetzung des Ochsen- und Pferdeblutes, nach derselben Methode ausgeführt, ist ebenfalls angegeben.

Wir sehen daraus, daß für das Ochsenblut bei der Malaria bovina (Texasfieber) die Verflüssigung des Hämoglobins und des Albumins verhältnismäßig leicht, und daß diese Verflüssigung oder Peptonisation bei einem sehr kranken Tiere fast vollständig ist, so daß auch hier der Gang der Krankheit nach diesen Daten verfolgt werden kann; dagegen ist die optische Aktivität der Inversionsflüssigkeiten nur wenig abgeschwächt.

Was das Blut von einem gesunden Pferde anbelangt, so sehen wir, daß das Hämoglobin hier dem Angriff der Salzsäure nur wenig Widerstand entgegensetzt.

Es ist somit außer Zweifel, daß jede Krankheit durch eine spezifische chemische Zusammensetzung des Blutes gekennzeichnet ist, denn jeder morbide Zustand ist offenbar begleitet von einer Modificierun des Hämoglobins und der anderen Bestandteile dieses Lebenselementes par excellence bei allen höher organisierten Wesen.

I. Interstitielle chronische Nephritis mit tödlichem Ausgange.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . . 1,01451.

	Direkte Verdampfung	Verdampfung unter Salzsäurezusatz
Trockenrückstand	98,80 ‰	114,50 ‰
Asche	10,10 „	9,30 „
Harnstoff	4,10 „	
Ureide	3,94 „	

Gesamtstickstoff 10746 ccm	13,497 g ‰
Auf Albumin umgerechnet	84,356 „ „
Albuminate, direkte Bestimmung	85,915 „ „
Asche dieser, Eisenoxyd	0,590 „ „
Reduktionskoeffizient in Kupferoxyd, CuO . . .	0,750 „ „
Entsprechende reduzierende Substanz	0,340 „ „
Gärung, Glucose	1,000 „ „

Inversion oder Hydrolyse.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	10,740 ‰
Asche dieser, Eisenoxyd	0,180 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtriert und mit Tierkohle entfärbt, vollständig klare und farblose Flüssigkeit. Ablenkung, D = —16°,875.

2. Reduktionskoeffizient in CuO	0,200 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz . . .	0,100 „
3. Gärung. Glucose	1,400 g ‰
Trockenrückstand	85,700 „ „
Asche	9,700 „ „
Gesamtstickstoff 8830 ccm	11,090 „ „
Auf Albumin umgerechnet	69,312 „ „

B. 50 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	9,550 ‰
Asche dieser, Eisenoxyd	0,160 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtriert und mit Tierkohle entfärbt. Vollständig klare und farblose Flüssigkeit. Ablenkung, D = —18°,17.

2. Reduktionskoeffizient in CuO	1,900 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz. . . .	0,900 „
3. Gärung. Glucose	6,000 „
Trockenrückstand	96,000 „
Asche	8,400 „
Gesamtstickstoff 9328,8 cm	11,717 „
Auf Albumin umgerechnet	73,231 „

C. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	6,380 ‰

Asche fehlt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung, D = —9°,231.

2. Reduktionskoeffizient in CuO	1,000 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz	0,400 „
3. Gärung. Glucose	7,000 „
Gesamtalbuminate. Direkte Bestimmung	85,915 „

Filtrierte Flüssigkeit:

Polarimeter. Filtrat ohne zu entfärben. Ablenkung, D = —10°,50.

Trockenrückstand	27,900 ‰
Asche	13,300 „
Gesamtstickstoff 2212,5 ccm	2,779 „
Auf Albumin umgerechnet	17,387 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:

A. 10,74 : 16,87,
   1,07 : 1,69, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.

B. 9,50 : 18,17,
   0,95 : 1,82, also ungefähr wie 1,0 : 2,0.

C. 6,38 : 9,23,
0,64 : 0,92, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.

2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
A. 10,74 : 69,31,
1,07 : 6,93, also ungefähr wie 1,0 : 1,6.
B. 9,50 : 73,23,
0,95 : 7,32, also ungefähr wie 1,0 : 7,7.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
A. 16,87 : 69,31,
1,69 : 6,93, also ungefähr wie 1,0 : 4,2.
B. 18,17 : 73,23,
1,82 : 7,32, also ungefähr wie 1,0 : 4,0.
C. 9,23 : unbekannt.

4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl .
A. 85,70 + 10,74 = 96,44	98,80	114,50
B. 96,00 + 9,50 = 105,50.		

Hier finden wir, daß die Summe der zwei ersten Glieder so ziemlich dem Trockenrückstand des Blutes gleichkommt, somit fand hier ebensowenig wie bei der akuten Nephritis ein wesentlicher Verlust an flüchtigen Stickstoffsubstanzen statt.

Die direkt erhaltene Menge der Albuminate ist gleich: 85,915 + 10,50 = 96,415 ‰.

Der Gesamtstickstoff des Blutes entspricht einer Menge Albumin von 84,356 ‰.

Somit findet hier gerade das Gegenteil von der akuten parenchymatösen Nephritis statt, aber dasselbe wie bei der chronischen interstitiellen Nephritis vom 4. April.

Bemerkt sei noch, daß dieses Blut sehr wenig reduzierende Substanzen und sehr wenig gärungsfähige Kohlehydrate aufweist. Das gleiche gilt für die Inversionsflüssigkeit.

Außerdem sehen wir, daß die einfache oder doppelte Menge Salzsäure im offenen Gefäße fast die gleiche lösende Wirkung auf die Albuminate und auf die Herabsetzung der polarimetrischen Ablenkung hat. Im zugeschmolzenen Gefäße ist die lösende Wirkung der Salzsäure stärker, wie zu erwarten war, und es ist hier namentlich die Herabsetzung der Ablenkung intensiver.

Somit erfährt hier das Hämoglobin eine sehr starke Lösung, was schon an und für sich ein schlimmes Zeichen ist; wie vorauszusehen war, starb der Kranke.

Wir bemerken endlich noch, daß die optische Ablenkung der Inversionsflüssigkeit sehr abgenommen hat, während für einen anderen Fall vom 4. April diese optische Ablenkung nur um wenig geringer und somit für den Ausgang ein gutes Zeichen war; der Kranke genas in der Tat.

II. Interstitielle chronische Nephritis mit Genesung.

Spezifisches Gewicht des Blutes 1,01887

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	135,30 ‰	156,70 ‰
Asche	8,90 „	9,70 „
Gesamtstickstoff 16 725,8 ccm		21,007 „
Auf Albumin umgerechnet		131,217 „
Albuminate, direkte Bestimmung		115,820 „
Asche dieser, Eisenoxyd		3,700 „
Reduktionskoeffizient in Cuo		0,900 „
Entsprechende reduzierende Substanz		0,410 „
Gärung, Glucose		2,000 „

Inversion.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 44,900 ‰
Asche dieser, Eisenoxyd . . . . 1,040 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrierte Flüssigkeit: „grauer Zustand“. Direkte Beobachtung. Ablenkung, D = —48°,75.
   Filtrierte Flüssigkeit mit Tierkohle geklärt: Ablenkung, D = —45°,0.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 1,20 ‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,54 „
3. Gärung. Glucose . . . . 14,00 „
   Trockenrückstand . . . . 110,85 „
   Asche . . . . 10,55 „
   Gesamtstickstoff 9553,87 ccm . . . . 12,00 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 75,00 „

B. 50 ccm + 2,5 ccm. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 47,05 ‰
Asche derselben, Eisenoxyd . . . . 3,35 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrierte Flüssigkeit, etwas grau, direkte Beobachtung. Ablenkung, D = —50°.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 2,40 ‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 1,09 „
3. Gärung. Beendigt nach 48 Stunden. Glucose 6,00 „
   Trockenrückstand . . . . 105,00 „
   Asche . . . . 9,80 „
   Gesamtstickstoff 10 195,35 ccm . . . . 12,805 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 80,034 „

Direkte Bestimmung der Albuminate . . 115,82 „

Filtrierte Flüssigkeit:

Polarimeter: Filtrat, direkte Beobachtung. Ablenkung, D = —28°,18.
Trockenrückstand . . . . 29,10 ‰
Asche . . . . 9,40 „

Gesamtstickstoff 3400,3 ccm . . . . 4,271 ‰
Auf Albumin umgerechnet . . . . 26,69 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 44,90 : 48,75,
      4,90 : 4,87, also ungefähr wie 1,0 : 1,0.
   B. 47,05 : 50,00,
      4,70 : 5,00, also ungefähr wie 1,0 : 1,0.
2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
   A. 44,90 : 75,00,
      4,49 : 7,50, also ungefähr wie 1,0 : 1,7.
   B. 47,05 : 80,03,
      4,70 : 8,00, also ungefähr wie 1,0 : 1,7.
3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
   A. 48,75 : 75,00,
      4,87 : 7,50, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.
   B. 50,00 : 80,03,
      5,00 : 8,00, also ungefähr 1,0 : 1,6.
4. Beziehungen zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 100,85 + 44,90 = 155,75	135,30	156,70
B. 105,00 + 47,05 = 152,05.		

Hier ist die Summe der zwei ersten Glieder bedeutend größer als der Trockenrückstand des Blutes als solcher, und somit hat hier kein Verlust an flüchtigen Stickstoffsubstanzen auf dem Wasserbade stattgefunden.

Die Menge der durch direkte Bestimmung erhaltenen Albuminate ist gleich: 115,82 + 28,18 = 144.

Der Gesamtstickstoff des Blutes, gibt uns nach der Umrechnung eine Menge von Albuminaten gleich: 131,297; somit hat im engeren Sinne des Wortes hier keine Blutabnutzung stattgefunden. Hier sehen wir somit ein gleiches wie bei der interstitiellen chronischen Nephritis vom 4. November, jedoch mit dem Unterschiede, daß dieser Kranke genas, während der vom 4. November starb.

III. Parenchymatöse akute Nephritis.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . 1,01202.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	86,00 ‰	97,00 ‰
Asche	9,10 „	8,00 „
Harnstoff	6,70 „	
Ureide	4,14 „	
Gesamtstickstoff		10,965 „
Auf Albumin umgerechnet		68,534 „
Albuminate, direkte Bestimmung		44,78 „
Reduktionskoeffizient in CuO		23,60 „
Entsprechende reduzierende Substanz		10,73 „
Gärung, Glucose		1,50 „

Inversion.

A. 100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 40,17 ‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Ablenkung, D = —17°,32.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 11,12 ‰
   Entsprechend reduzierender Substanz . . . . 5,06 „
3. Gärung. Glucose . . . . 1,00 „
   Trockenrückstand . . . . 56,20 „
   Asche . . . . 8,60 „
   Gesamtstickstoff . . . . 7,486 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 46,79 „

B. 100 ccm + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 25,89‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Ablenkung, D = —25° ‰.
2. Reduktionskoeffizient in CuO unbekannt.
3. Gärung. Glucose . . . . 1,50 ‰
   Trockenrückstand . . . . 72,60 „
   Asche . . . . 8,60 „
   Gesamtstickstoff . . . . 8,736 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 54,604 „

C. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 15,74‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat mit Tierkohle entfärbt. Flüssigkeit vollkommen klar und farblos. Ablenkung, D = —24°,81‰.
2. Reduktionskoeffizient in CuO unbekannt.
3. Gärung. Glucose unbekannt.

D. 50 ccm + 5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 11,84‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Flüssigkeit vollständig klar und farblos. Ablenkung, D = ungewiß; sehr wahrscheinlich = 0.

E. 100 ccm + 2,5 ccm Natronlauge zu 40%.

Unlösliche Albuminate . . . . 2,04‰

Filtrat:

Polarimeter. Ablenkung, D = unbekannt.

Gesamtstickstoff . . . . 10,168 ‰
Auf Albumin umgerechnet . . . . 63,554 „
Gesamtalbuminate. Direkte Bestimmung 44,78 „

Filtrat:

Polarimeter. Direkte Beobachtung. Ablenkung, D = —10°.

Bemerkung: Der Trockenrückstand dieses Blutes ist nur schwach gelb gefärbt. Das Hämoglobin wird nur schwer von der Salzsäure angegriffen und ist somit wenig löslich.

Die Menge präformierten Zuckers ist sehr gering, während die Menge der reduzierenden Substanzen verhältnismäßig sehr hoch ist. Ein Teil dieser Substanzen wird durch die Salzsäure zerstört, während die geringe Menge gärungsfähigen Zuckers dem Angriff der Salzsäure widersteht.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 40,17 : 17,32,
      4,02 : 1,73, also ungefähr wie 2,7 : 1,0.
   B. 25,89 : 25,00,
      2,59 : 2,50, also ungefähr wie 1,0 : 1,0.
   C. 15,74 : 24,81,
      1,57 : 2,48, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.
2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
   A. 40,17 : 46,79,
      4,02 : 4,68, also ungefähr wie 1,0 : 1,1.
   B. 25,89 : 54,60,
      2,59 : 5,46, also ungefähr wie 1,0 : 2,1.
   C. Unbekannt.
   D. Unbekannt.
   E. 2,04 : 63,55,
      0,20 : 6,35, also ungefähr wie 1,0 : 31,0.
3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
   A. 17,32 : 46,79,
      1,73 : 4,68, also ungefähr wie 1,0 : 2,7.
   B. 25,00 : 54,60,
      2,50 : 5,46, also ungefähr wie 1,0 : 2,2.
4. Beziehungen zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 56,20 + 40,17 = 96,37	86,00	97,00
B. 72,60 + 25,89 = 98,49.		

Hier repräsentieren die zwei ersten Glieder so ziemlich genau den Trockenrückstand des Blutes, das unter Salzsäurezusatz auf dem Wasserbade verdampft wurde.

Die Menge der durch direkte Bestimmung erhaltenen Albuminate ist gleich: 44,78 + 10,00 = 54,78.

Der Gesamtstickstoff des Blutes gibt, in Albumin umgerechnet, die Summe von 68,534 g $^0/_{00}$. Somit enthält dieses Blut eine den Ureiden sich nähernde stickstoffhaltige Substanz im Betrage von: 68,534 — 54,78 = 13,754.

Somit kann die Blutabnützung repräsentiert werden durch die Zahl von ein Fünftel, denn 13,754 × 5 = 68,77.

Hier ist ebenfalls wie für die interstitielle akute Nephritis die Menge gärungsfähigen Zuckers unbedeutend.

Eine erhebliche Menge reduzierender Substanzen wurde durch die Inversion zerstört.

Hier ist die polarimetrische Ablenkung der Albuminate der Inversionsflüssigkeit bloß um die Hälfte verringert, während für die interstitielle akute Nephritis dieselbe um drei Viertel geringer ausfällt, und somit gerade das Gegenteil von dem eintritt, was man logischerweise erwarten könnte.

In der parenchymatösen akuten Nephritis ist der Widerstand der Albuminate gegen die Salzsäure viel größer als bei der interstitiellen akuten Nephritis, und dies ist es gerade, was die Persistenz der optischen Ablenkung der Albuminkörper, deren Molekel eine geringere Modifikation erfahren haben, in zufriedengebender Weise erklärt.

IV. Parenchymatöse chronische Nephritis.

Blut Nr. 12 vom 19. Juni.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . 1,0193.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	76,90	91,10
Asche	10,90	9,25
Harnstoff	1,66	

Polarimeter. Direkte Beobachtung; D = — 62,68°.

Reduktionskoeffizient in CuO . . . . $1,40^0/_{00}$

Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . . 0,66 „

Gärung. Glucose . . . . 2,40 „

Inversion.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . $36,00^0/_{00}$

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung D = — 22°,08.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . $0,50^0/_{00}$
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,23 „
3. Gärung. Glucose . . . . 14,00 „
   Ende der Kohlensäureansammlung in 4 Tagen,
   Glucose . . . . 4,40 „
   Trockenrückstand . . . . 49,20 „
   Asche . . . . 9,40 „

B. 50 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . $10,92^0/_{00}$

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung, D = — 40°,313°/₀₀.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,45°/₀₀
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,20 „
3. Gärung. Glucose . . . . 20,00 „
   Ende der Kohlensäureansammlung in 4 Tagen,
   Glucose . . . . 5,00 „
   Trockenrückstand . . . . 76,30 „
   Asche . . . . 8,80 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 36,00 : 22,08,
   3,60 : 2,24, also ungefähr wie 1,65 : 1,00.
   B. 10,92 : 40,31,
   1,09 : 4,03, also ungefähr wie 1,00 : 3,70.
2. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 49,20 + 36,00 = 85,20°/₀₀	76,90°/₀₀	91,10°/₀₀
B. 76,30 + 10,92 = 87,22.		

Hier ist die Summe der beiden ersten Glieder etwas höher als der Trockenrückstand des Blutes, aber geringer als der unter Zusatz von Salzsäure erhaltene Trockenrückstand.

Die Ermittelung der Menge von Albuminaten allein mit Hilfe der polarimetrischen Ablenkung ist weniger sicher, sie war gleich 67,68°/₀₀.

Die direkte Bestimmung der Albuminate nach dem von mir gebrauchten Verfahren mit einem großen Überschuß von Salzsäure wurde leider nicht vorgenommen.

Da hier der Gesamtstickstoff ebenfalls fehlt, so können wir keine weiteren Schlüsse ziehen. Doch ist von Wichtigkeit zu bemerken, daß die Inversionsflüssigkeit eine sehr große Menge gärungsfähiger Kohlehydrate aufweist, die nicht reduzieren und vielleicht auch optisch inaktiv sind.

Somit unterscheidet sich durch diese Tatsache die parenchymatöse chronische Nephritis deutlich von der akuten interstitiellen sowie von der parenchymatösen akuten Nephritis, was bemerkenswert ist.

V. Hepatitis. Hydatischer eiternder Cyst.

Nr. 12, 19. Juni.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . 1,01628.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	133,10°/₀₀	
Asche	12,30 „	
Harnstoff	2,10 „	

Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 15,20°/₀₀
Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . . 6,91 „
Gärung. Glucose . . . . 2,00 „

Inversion.

50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 64,90‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —33°,21.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,70‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,32 „
3. Gärung. Glucose . . . . 5,00 „
   Ende der Kohlensäureansammlung in 12 Stunden.
   Sehr rasche Kondensation. Glucose . . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 83,20 „
   Asche . . . . 8,40 „

Bemerkung: Was dieses Blut von dem Blute der folgenden Analyse Nr. VI (Blut Nr. 13 vom 19. Juni) vorzugsweise unterscheidet, ist die doppelte nicht in Lösung gegangene Hämoglobin- und Albuminmenge, während der verflüssigte Anteil kaum mehr als wie die Hälfte von dem des Blutes Nr. 13 repräsentiert.

Somit erfuhren die Albuminate von Nr. 13 vom 19. Juni eine starke Peptonisation bei gleichzeitiger starker Steigerung der reduktionsfähigen Substanzen, da dieselben für Nr. 13 gleich 16,50‰ ausmachen, während für Nr. 12 sie bloß 6,90‰ betragen. Was die Menge des gärungsfähigen Zuckers anlangt, so ist dieselbe in den beiden Fällen ungefähr die gleiche.

Da die Menge der reduzierenden Substanzen der Inversionsflüssigkeiten für die beiden Blutmengen Nr. 12 und 13 unbedeutend ist, während die Gärung der Inversionsflüssigkeiten derselben eine größere Menge von Zucker aufweist als vor der Inversion, so muß angenommen werden, daß die präformierte Glucose hier von der Salzsäure nicht zerstört wird, aber daß ihre Reduktionsfähigkeit nach der Inversion nicht mehr nachweisbar ist, und daß ferner die anderen die Glucose begleitenden reduzierenden Substanzen durch die Inversion zerstört oder doch wenigstens in nicht mehr reduktionsfähige Körper übergeführt wurden.

Bemerkt sei noch, daß der Trockenrückstand des Blutes Nr. 13 in dem Trockenschrank bei 100° nicht merklich an Gewicht zunimmt, was anzeigt, daß das Hämoglobin sein Absorptionsvermögen für den Sauerstoff der Luft fast vollständig verloren hat.

Übrigens ist der Trockenrückstand im Wasserbade für das Blut Nr. 13 nur schwach gelb gefärbt, während der gleiche Rückstand unter denselben Bedingungen für das Blut Nr. 12 schwarz und glänzend ist. Somit verhalten sich diese beiden Blutsorten auch in dieser Beziehung verschieden.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
   64,90 : 33,21,
   6,49 : 3,32, also ungefähr wie 2,0 : 1,0.
2. Beziehungen zwischen den Trockenrückständen:

	Trockenrückstand
83,20 + 64,90 = 148,10;	133,10‰

Hier ist die Summe der beiden ersten Glieder um volle 15 % höher als der Trockenrückstand des Blutes. Somit fand hier keine Verflüchtigung von Albuminaten statt, und diese Differenz ist ungefähr das Doppelte derjenigen des Blutes Nr. 13 vom 19. Juni.

VI. Hepatitis. Serosis. Alkoholische fette Hepatitis.

Nr. 13, 19. Juni.

Spezifisches Gewicht des Blutes	1,01564.
Trockenrückstand	119,10 ‰
Asche	9,00 „
Harnstoff	3,93 „
Reduktionskoeffizient in CuO	36,30 „
Entsprechende reduzierende Substanz	16,50 „
Gärung. Glucose	3,20 „

Inversion.

50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	30,00 ‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle.	D = — 53°,08.
2. Reduktionskoeffizient in CuO	0,80 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz	0,36 „
3. Gärung. Glucose	4,80 „
Ende der Kohlensäureansammlung in 12 Stunden, Glucose	0,00 „
Trockenrückstand	98,80 „
Asche	10,80 „

Bemerkung: Dieses Blut ist durch die Gegenwart einer sehr großen Menge reduzierender Substanzen, 16,50 ‰, gekennzeichnet welche durch die Inversion vollständig zerstört werden.

Die Menge präformierten Zuckers ist gering und die Menge desselben nimmt noch durch die Inversion etwas zu, so daß es scheint, als ob dieselbe durch die Hydrolyse nicht zerstört wird.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
   30,00 : 53,08,
   3,00 : 5,31, also ungefähr wie 1,0 : 1,8.
2. Beziehung zwischen den Trockenrückständen:

	Trockenrückstand
98,80 + 30,00 = 128,80 ‰	119,10 ‰

Hier ist die Summe der zwei ersten Glieder um 9,7 ‰ höher als wie der Trockenrückstand des Blutes. Somit fand hier keine Verflüchtigung von Albuminaten statt.

VII. Alkoholische fette Hepatitis.

Nr. 13, 16. Juli. Der gleiche Kranke wie der vorige.

Spezifisches Gewicht des Blutes	1,01522.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	102,50‰	109,20‰
Asche	8,10 „	7,90 „
Harnstoff	3,37 „	
Reduktionskoeffizient in CuO		12,80 „
Entsprechende reduzierende Substanz		5,82 „
Gärung. Glucose		6,00 „

Inversion.

50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 43,10‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = −29°,30.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 25,80‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 11,73 „
3. Gärung. Glucose . . . . 16,00 „
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 67,48 „
   Asche . . . . 8,60 „

Bemerkung: Die Hydrolyse wurde infolge Unterbrechung des Gasstromes unter fehlerhaften Bedingungen ausgeführt. Die erhaltenen Resultate sind somit, was wenigstens die Mengenverhältnisse anbelangt, etwas unsicher.

Dieses Blut ist durch eine große Menge reduzierender und gärungsfähiger Substanzen ausgezeichnet, welche ganz besonders in der Inversionsflüssigkeit sich geltend machen, und deren Menge hier bedeutend größer ist als im gewöhnlichen Blute.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
   43,10 : 29,30,
   4,31 : 2,93, also ungefähr wie 1,5 : 1,0.
2. Beziehung zwischen den Trockenrückständen:

	Trockenrückstand	Id + HCl
67,40 + 43,10 = 110,50;	102,50	109,20

Die Summe der zwei ersten Glieder ist bloß um 8 g höher als wie der Trockenrückstand des Blutes.

Dieses Blut hat offenbar während der Dauer von 28 Tagen, da es von dem gleichen Kranken wie das Blut der Analyse Nr. VI herrührt, eine nicht unbedeutende Modifikation erlitten, denn hier ist der Trockenrückstand bedeutend geringer, und dessenungeachtet hat die Menge gärungsfähigen Zuckers in dem Blute und in der Inversionsflüssigkeit desselben bedeutend zugenommen.

Dagegen ist die Differenz zwischen der Summe der beiden ersten Glieder und dem Trockenrückstand des Blutes fast dieselbe, 8‰ hier und 9,7‰ für die Inversionsflüssigkeit vom 19. Juni.

VIII. Nieren-Kardiaker.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . . . 1,0235.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	104,00 ‰	124,60 ‰
Asche	7,90 „	6,60 „
Harnstoff	3,40 „	
Reduktionskoeffizient in CuO		22,10 „
Entsprechende reduzierende Substanz		10,00 „
Gärung. Glucose		4,00 „

Inversion.

A. 100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 26,24 ‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —39°,0.
2. Reduktionskoeffizient in CuO unbekannt.
3. Gärung. Glucose . . . . 12,00 ‰
   Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
   Glucose . . . . 3,00 „
   Trockenrückstand . . . . 92,20 „
   Asche . . . . 8,00 „

B. 100 ccm + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 27,15 ‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —41°,78.
2. Gärung. Glucose . . . . 16,00 ‰
   Ende der Kohlensäurekondensation in 96 Stunden,
   Glucose . . . . 4,00 „

C. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 27,04 ‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —41°,36.

Bemerkung: Dieses Blut gibt, bei einem verhältnismäßig hohen spezifischen Gewicht nur einen geringen Trockenrückstand. Außerdem ist die Menge der reduzierenden Substanzen und die Menge des gärungsfähigen präformierten Zuckers sehr bedeutend, und namentlich muß die Aufmerksamkeit auf die große Menge gärungsfähigen Zuckers in der Inversionsflüssigkeit gelenkt werden.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 26,24 : 39,00,
      2,62 : 3,90, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.
   B. 27,15 : 41,78,
      2,71 : 4,18, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.

C. 27,04 : 41,36,
2,70 : 4,14, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.

2. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 94,20 + 26,24 = 120,44;	104,00	124,60
B. und C. unbekannt.		

Bemerkung: Hier ist die Summe der zwei ersten Glieder beträchtlich höher als wie der Trockenrückstand des Blutes und nähert sich der Menge des Trockenrückstandes, erhalten unter Zusatz von Salzsäure.

Bemerken wir noch, daß die lösende Wirkung der Salzsäure für die verschiedenen Grade des Ansäuerns ungefähr die gleiche ist, wahrscheinlich bedeutet dieses, daß die einfache Menge von Salzsäure, also 2,5 ccm auf 50 ccm verdünntes Blut, genügt, um alle peptonisationsfähigen Albuminate zu verflüssigen, ein Umstand, dem wir nur selten begegnen.

IX. Uremie.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . 1,0138.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	93,60‰	104,60‰
Asche	8,00 „	8,30 „
Harnstoff	7,76 „	
Ureide	2,74 „	

Gesamtstickstoff 10 463,2 ccm	13,142‰
Auf Albumin umgerechnet	82,136 „
Albuminate, direkte Bestimmung	89,605 „
Reduktionskoeffizient in CuO	1,300 „
Entsprechende reduzierende Substanz	0,600 „
Gärung, Glucose	1,000 „

Inversion.

A. 100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	41,47‰
Asche, Eisenoxyd	0,52 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —18°,57.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,500‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,230 „
3. Gärung. Null.
   Trockenrückstand . . . . 68,900 „
   Asche . . . . 8,500 „
   Gesamtstickstoff 6285,6 ccm . . . . 7,895 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 49,344 „

B. 100 ccm + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	31,44‰
Asche, Eisenoxyd	0,31 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —13°,57.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,900‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 0,410 „
3. Gärung. Null.
   Trockenrückstand . . . . 74,00 „
   Asche . . . . 10,00 „
   Gesamtstickstoff 8178,0 ccm . . . . 10,271 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 64,194 „

C. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Filtration langsam.

Unlösliche Albuminate . . . . 36,06‰
Asche, Eisenoxyd . . . . 1,70 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung unbekannt.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . . 0,40‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 0,20 „
3. Gärung. Null.
   Trockenrückstand . . . . 71,20 „
   Asche . . . . 8,00 „
   Gesamtstickstoff 6764 ccm . . . . 8,495 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 53,097 „

D. 50 ccm + 5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 21,04‰
Asche, Eisenoxyd . . . . 0,64 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung unbekannt.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,70 ‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,32 „
3. Gärung. Null.
   Trockenrückstand . . . . 87,00 „
   Asche . . . . 7,60 „
   Gesamtstickstoff 9338,6 ccm . . . . 11,729 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 73,306 „

Albuminate, direkte Bestimmung . . . . . 89,605 „

Frisches Blut. Filtrierte Flüssigkeit.

a) Filtrat, direkte Beobachtung.
   Polarimeter. D = —17°,23.
b) Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = —15°.

Trockenrückstand . . . . 32,30 ‰
Asche . . . . 9,30 „
Gesamtstickstoff 3991,5 ccm . . . . 5,013 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 31,333 „

Das gleiche Blut, aber 4 Tage alt:

Albuminate, direkte Bestimmung . . . . . 55,12‰

Filtrierte Flüssigkeit.

Polarimeter. Direkte Beobachtung. D = −15°,83.

Trockenrückstand	39,40 ‰
Asche	7,10 „
Gesamtstickstoff 3876 ccm	4,868 „
Auf Albumin umgerechnet	30,425 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:

A. 41,47 : 18,57,
4,15 : 1,86, also ungefähr wie 2,2 : 1,0.

B. 31,44 : 13,57,
3,14 : 1,36, also ungefähr wie 2,3 : 1,0.

2. Inversionsstickstoffbeziehung für:

A. 41,47 : 49,34,
4,15 : 4,93, also ungefähr wie 1,0 : 1,2.

B. 31,44 : 64,19,
3,14 : 6,42, also ungefähr wie 1,0 : 2,0.

C. 36,06 : 53,10,
3,61 : 5,31, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.

D. 21,04 : 73,31,
2,10 : 7,33, also ungefähr wie 1,0 : 3,5.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:

A. 18,57 : 49,34,
1,86 : 4,93, also ungefähr wie 1,0 : 2,7.

B. 13,57 : 64,19,
1,36 : 6,42, also ungefähr wie 1,0 : 4,8.

4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 68,90 + 41,47 = 128,37‰;	93,60‰	104,60‰
B. 74,00 + 31,44 = 105,44 „		
C. 71,20 + 36,06 = 107,26 „		
D. 87,00 + 21,04 = 108,04 „		

Hier ist die Summe der beiden ersten Glieder immer etwas höher als der Trockenrückstand von B, C und D und sehr bedeutend höher als der für A. Somit fand hier bei der Inversion und Eindampfung auf dem Wasserbade eine ganz bedeutende Verflüchtigung, statt, da für A die Summe der beiden ersten Glieder 128, also um 34,77‰ geringer ist als der Trockenrückstand des Blutes, und für B, C und D diese Differenz immer noch 11,84, 13,06 und 14,44‰ beträgt. Es hat somit den Anschein, als ob hier mehr eine starke Hydratation als eine Verflüchtigung von Stickstoffverbindungen stattgefunden hätte.

Die Gesamtmasse der Albuminate durch direkte Bestimmung ist gleich: 89,605 + 17,23 = 106,83‰.

Der Gesamtstickstoff des Blutes gibt, umgerechnet in Albumin, die Menge von 82,136‰.

Somit findet hier das Gegenteil einer Blutabnutzung statt, und es hat dieser Fall infolgedessen große Ähnlichkeit mit der interstitiellen chronischen Nephritis vom 4. November.

In diesem Blute wie in dessen Inversionsflüssigkeit treffen wir ebensowenig wie in dem folgenden Blute Analyse Nr. X reduzierende und gärungsfähige Substanzen; hierdurch unterscheidet sich dasselbe, was die Fermentation nach der Inversion betrifft, von dem Blute der nachfolgenden Analyse.

Das Albumin und Hämoglobin dieses Blutes ist sehr widerstandsfähig gegen den Angriff der Salzsäure und verhält sich somit genau wie das Hämoglobin und das Albumin des folgenden Blutes Nr. 26 vom 11. Dezember.

X. Uremie. Nr. 26. 11. Dezember

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . . . 1,01587.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	113,80‰	133,15 ‰
Asche	8,80 „	10,15 „
Harnstoff	8,40 „	
Ureide	4,51 „	

Gesamtstickstoff 13 365 ccm	16,786 „
Auf Albumin umgerechnet	104,912 „
Direkte Bestimmung der Albuminate	80,800 „
Asche dieser, Eisenoxyd	0,16 „
Reduktionskoeffizient in CuO	1,10 „
Entsprechende reduzierende Substanz	0,50 „

Gärung Null.

Inversion.

A. 100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	54,55‰
Asche, Eisenoxyd	0,19 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle.	D = —21°,43.
2. Reduktionskoeffizient in CuO	1,65 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz	0,75 „
3. Gärung. Glucose	4,00 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden, Glucose	0,00 „
Trockenrückstand	65,10 „
Asche	6,80 „
Gesamtstickstoff 10 549,2 ccm	13,25 „
Auf Albumin umgerechnet	82,811 „

B. 100 ccm + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 39,38 ‰
Asche, Eisenoxyd . . . . 0,79 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Flüssigkeit vollständig klar, aber ein wenig im „grauen Zustande". D = — 26°,47.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 1,40 ‰
   Entsprechend reduzierender Substanz . . . . 0,64 „
3. Gärung. Glucose . . . . 4,00 „
   Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 86,00 „
   Asche . . . . 7,10 „
   Gesamtstickstoff 11 251,8 ccm . . . . 14,132 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 88,33 „

C. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 28,45 ‰
Asche, Eisenoxyd . . . . 0,55 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung unbekannt.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 1,00 ‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,46 „
3. Gärung. Glucose . . . . 5,50 „
   Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 101,20 „
   Asche . . . . 6,40 „
   Gesamtstickstoff 11 125,8 ccm . . . . 13,97 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 87,34 „

D. 50 ccm + 5 ccm HCl. Zugeschmolzenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 12,61 ‰
Asche, Eisenoxyd . . . . 0,26 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung unbekannt.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 1,20 ‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,55 „
3. Gärung. Glucose . . . . 8,00 „
   Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 116,80 „
   Asche . . . . 10,60 „
   Gesamtstickstoff 12 990 ccm . . . . 16,31 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 101,97 „

Albuminate, direkte Bestimmung . . . . . 80,00 „

Filtrat:

Polarimeter. Entfärbt mit Tierkohle. D = ca. 11°,85.

Trockenrückstand . . . . 37,40‰
Asche . . . . 6,80 „
Gesamtstickstoff 3969 ccm . . . . 4,98 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 31,15 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 54,55 : 21,43,
   5,45 : 2,14, also ungefähr wie 2,5 : 1,0.
   B. 39,38 : 26,47,
   3,94 : 2,65, also ungefähr wie 1,5 : 1,0.
2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
   A. 54,55 : 82,81,
   5,45 : 8,28, also ungefähr wie 1,0 : 1,5.
   B. 39,38 : 88,33,
   3,94 : 8,83, also ungefähr wie 1,0 : 2,2.
   C. 28,43 : 87,34,
   2,84 : 8,73, also ungefähr wie 1,0 : 3,1.
   D. 12,61 : 101,97,
   1,26 : 10,20, also ungefähr wie 1,0 : 8,0.
3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
   A. 21,43 : 82,81,
   2,14 : 8,28, also ungefähr wie 1,0 : 3,8.
   B. 26,47 : 88,33,
   2,65 : 8,83, also ungefähr wie 1,0 : 3,3.
4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 65,10 + 54,55 = 119,65;	113,80	133,15
B. 86,80 + 39,38 = 126,18;		
C. 101,20 + 28,45 = 129,65;		
D. 116,80 + 12,61 = 129,41.		

Hier ist die Summe der beiden ersten Glieder immer etwas höher als der Trockenrückstand des Blutes, aber nicht bedeutender als der Trockenrückstand erhalten unter Zusatz von Salzsäure.

Die Menge der Gesamtalbuminate durch direkte Bestimmung ist gleich: 80,80 + 11,85 = 92,65‰.

Der Gesamtstickstoff des Blutes gibt , in Albumin umgerechnet, die Summe von 104,912; somit enthält das Blut eine Menge den Ureiden sich nähernder stickstoffhaltiger Substanzen im Betrage von 104,912 – 92,65 = 12,262‰. Es muß somit die Blutabnutzung durch die Zahl von 1/8,5 repräsentiert werden, denn: 12,262 × 8,5 = 104,227‰.

Dieses Blut enthält reduktions- und gärungsfähige Körper nicht in erheblicher Menge. Dagegen enthält die Inversionsflüssigkeit eine bedeutende Menge gärungsfähiger Kohlehydrate, und zwar vorzugsweise

die in zugeschmolzenem Gefäße und mit der größeren Menge Salzsäure erhaltene Inversionsflüssigkeit.

Die Albuminate dieses Blutes widerstehen stark dem Angriff der Salzsäure.

XI. Schwarzer Kardiaker.

Tödlicher Ausgang.

Klassifikation von Herrn Prof. Dr. Abel Ayerza.

Nr. 7, 30. Juli.

Spezifisches Gewicht des Blutes unbekannt.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	189,80‰	222,00‰
Asche	11,10 „	8,60 „
Harnstoff	9,76 „	
Reduktionskoeffizient in CuO		51,10 „
Entsprechende reduzierende Substanz		23,23 „
Gärung, Glucose		4,50 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden Glucose		0,00 „

Inversion.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 60,90‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 67°,50.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 7,70‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 3,50 „
3. Gärung. Glucose . . . . 14,00‰
   Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 76,55 „
   Asche . . . . 4,45 „

B. 50 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 31,02‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Filtrat vollständig klar, aber sehr grau („grauer Zustand"). Ablenkung unbekannt, da genaue Ablesung unmöglich.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,30‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,15 „
3. Gärung unbekannt.
   Trockenrückstand . . . . 77,70 „
   Asche . . . . 4,50 „

Bemerkung: Dieses Blut ist besonders gekennzeichnet durch die Gegenwart einer sehr großen Menge reduzierender Substanzen und durch verhältnismäßig wenig gärungsfähige Glucose. Diese reduzierenden Substanzen werden teilweise oder vollständig durch die Hydrolyse zerstört und dann durch gärungsfähige Kohlehydrate ersetzt. Außerdem erscheint hier der graue Zustand der Inversionsflüssigkeit sehr intensiv, und zwar so ausgesprochen, daß die polarimetrische Beobachtung für die Inversionsflüssigkeit von B. ganz unmöglich wird.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 60,90 : 67,50,
   6,09 : 6,75, also ungefähr wie 1,0 : 1,1.
   B. 31,02 : unbekannt.
2. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 76,55 + 60,90 = 137,45;	189,80	222,00
B. 77,70 + 31,02 = 108,72.		

Ferner ist dieses Blut charakterisiert durch die große Differenz zwischen der Summe der beiden ersten Glieder und dem Trockenrückstand des Blutes, da die Summe der beiden ersten Glieder von B. nur die Hälfte des Trockenrückstandes des Blutes, unter Zufügung einiger Tropfen Salzsäure, repräsentiert.

Somit ist dies ein sicher ganz typischer Fall für diese Krankheit, wie auch der ausgeprägte „graue Zustand" der Inversionsflüssigkeit für die höhere Salzsäuremenge.

Hier ist der Verlust an flüchtigen Stickstoffverbindungen auf dem Wasserbade außerordentlich groß, wie wir dies nirgendwo anders beobachtethaben.

Es ist somit diese Krankheit gekennzeichnet durch:

1. die Gegenwart einer ungewöhnlich großen Menge reduzierender, aber nicht gärungsfähiger Substanzen im Blute;

2. die Zerstörung dieser reduzierenden Substanzen bei der Inversion;

3. das Auftreten einer bedeutenden Menge gärungsfähigen Zuckers bei der Inversion;

4. die Bildung einer sehr großen Menge stickstoffhaltiger flüchtiger Substanzen während der Hydrolyse;

5. den intensiv grauen Zustand der Inversionsflüssigkeit für B, so daß die polarimetrische Beobachtung unmöglich wird.

Diese Krankheit ist von Abel Ayerza nach seinen klinischen Beobachtungen beschrieben

Somit rechtfertigt die differenzierte chemische Analyse vollständig die Ansicht des bekannten argentinischen Forschers.

XII. Schwarzer Kardiaker.

Mit Genesung.

Klassifikation von Herrn Prof. Dr. Abel Ayerza.

Spezifisches Gewicht des Blutes . . . . 1,02113.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	155,80°/₀₀	182,90°/₀₀
Asche	11,30 „	10,30 „

Harnstoff unbekannt.

Reduktionskoeffizient in CuO	5,00 „
Entsprechende reduzierende Substanz	2,27 „
Gärung, Glucose	3,60 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden, Glucose	0,00 „
Gesamtstickstoff 17 575 ccm	22,07 „
Auf Albumin umgerechnet	137,96 „

Inversion.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 40,36°/₀₀

Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 88°,73.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . . 1,50°/₀₀
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,70 „
3. Gärung. Glucose . . . . 3,60 „
   Ende der Kohlensäurekondensation in 24 h, Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 97,00 „
   Asche . . . . 3,90 „

Bemerkung: Dieses Blut zeigt die Eigentümlichkeit, vor und nach der Hydrolyse die gleiche Menge gärungsfähigen Zuckers aufzuweisen. Somit fand hier keine Spaltung von solchen Albuminaten statt, welche bei der Inversion gärungsfähige Kohlehydrate hätten liefern können.

Außerdem ist das Hämoglobin dieses Blutes leicht löslich und hat somit während des Krankheitsprozesses eine bedeutende Veränderung erlitten, welche seine Resistenz gegen chemische Agentien sehr verringert. Es ist dies vielleicht der Grund der großen Gewichtsabnahme des Trockenrückstandes auf dem Wasserbade und der großen Verringerung der optischen Aktivität der Inversionsflüssigkeit B.

Dementsprechend findet hier eine starke Verflüchtigung von stickstoffhaltigen Substanzen statt, wie wir dies auch bereits für das Blut des Cardiaco negro in der vorherigen Analyse vom 30. Juli beobachtet haben.

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
   A. 40,36 : 88,73,
   4,04 : 8,87, also ungefähr wie 1,0 : 2,2.

B. 27,68 : 46,60,
2,77 : 4,66, also ungefähr wie 1,0 : 1,7.

2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
A. 40,36 : 133,39,
4,04 : 1,33, also ungefähr wie 3,0 : 1,0.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
A. 88,73 : 133,38,
8,87 : 1,33, also ungefähr wie 6,6 : 1,0.

4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand	Id + HCl
A. 164,20 + 40,36 = 204,56;	155,80	182,90
B. 97,20 + 27,68 = 124,88.		

Dieses Blut hat somit große Ähnlichkeit mit dem Blute der Cardiaco negro von Abel Ayerza. Bei der einfachen Inversion fanden wir, daß die Summe der beiden ersten Glieder bedeutend höher ist als der Trockenrückstand des Blutes, eine Tatsache, welche dasselbe von dem der Cardiaco negro unterscheidet, während bei der doppelten Inversion die Summe der beiden ersten Glieder erheblich geringer als der Trockenrückstand ist, eine Eigenschaft, welche nun dieses Blut mit dem des Cardiaco negro vom 30. Juli vergleichbar macht, obgleich hier die Differenz etwas geringer ist.

Dieses Blut sowie das vom 3. Juli entgeht somit vollständig einer mehr oder weniger regelmäßigen Klassifikation und erlitt offenbar im Organismus eine tiefgreifende Veränderung, ähnlich der des Blutes der Analyse Nr. XI.

Der Grund dieser Erscheinungen ist vorläufig noch unbekannt, kann aber durch weitere Untersuchungen wohl gefunden werden.

Es mögen nun die Resultate einiger Analysen von normalem Rinderblut, von Blut von Ochsen, die von der Malaria bovina (Tristeza, Texasfieber) befallen waren, und endlich Analysen von normalem Pferdeblut folgen.

Ferner fügen wir noch Analysen von einigen Punktionsflüssigkeiten bei zum Vergleich mit den Blutanalysen.

XIII. Normales Ochsenblut.

Trockenrückstand	196,50	‰
Asche	10,00	„
Eisen	0,5534	„
Gesamtstickstoff 23 801 ccm	29,895	„
Auf Albumin umgerechnet	186,84	„
Harnstoff	5,57	„
Reduktionskoeffizient in CuO	0,20	„
Entsprechend reduzierender Substanz	0,09	„
Gärung, Glucose	27,00	„

Spektroskopische Beobachtung: zwei Absorptionsstreifen in gelbgrün. Außerdem keine andere Absorption. Somit: Oxyhämoglobin.

Inversion.

100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 62,50‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 77°,10.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,00‰
3. Gärung. Glucose . . . . 40,00 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
62,50 : 77,10,
6,25 : 7,71, also ungefähr wie 1,0 : 1,2.

XIV. Blut von einem in Genesung begriffenen Tiere.

Blut entnommen 15 Tage nach der Hämoglobinuriekrisis.

Trockenrückstand	189,00 ‰
Asche	9,50 „
Eisen	0,55 „
Gesamtstickstoff 22 320 ccm	28,034 „
Auf Albumin umgerechnet	175,21 „
Harnstoff	11,27 „
Reduktionskoeffizient in CuO	0,50 „
Entsprechende reduzierende Substanz	0,22 „
Gärung, Glucose	14,50 „

Spektroskopische Beobachtung: Zwei starke Absorptionsstreifen in gelbgrün und vollständige Verdunkelung der rechten Seite des Spektrums. Große Menge Oxyhämoglobin und wahrscheinlich größere Menge von Gallenfarbstoffen.

Inversion.

100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 36,20‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 91°,50.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,00‰
3. Gärung. Glucose . . . . 30,00 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
36,20 : 91,50,
3,62 : 9,15, also ungefähr wie 1,0 : 2,5.

XV. Blut eines kranken Tieres.

Entnommen während der Hämoglobinuriekrisis.

Trockenrückstand	164,00 ‰
Asche	10,00 „
Eisen	0,603 „
Harnstoff	5,146 „

Gesamtstickstoff 19 909 ccm . . . . 25,006 ‰
Auf Albumin umgerechnet . . . . 156,28 „
Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 4,50 „
Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . . 2,04 „
Gärung, Glucose . . . . 13,50 „

Spektroskopische Beobachtung: Zwei starke Absorptionsstreifen in gelbgrün und vollständige Verdunkelung der rechten Seite des Spektrums.

Inversion.

100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 25,50 ‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohel. Ablenkung, D = –90°,50.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,00 ‰
3. Gärung. Glucose . . . . 27,00 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
25,50 : 90,50,
2,55 : 9,05, also ungefähr wie 1,0 : 3,6.

XVI. Blut eines sehr kranken Tieres.

Blut entnommen während der hämoglobinurischen Krisis.

Trockenrückstand . . . . 112,50 ‰
Asche . . . . 10,80 „
Eisen . . . . 0,75 „
Gesamtstickstoff 13 166 ccm . . . . 16,54 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 103,31 „
Harnstoff . . . . 11,90 „
Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 5,00 „
Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . . 2,27 „
Gärung, Glucose . . . . 11,00 „

Spektroskopische Beobachtung: Ein starker Absorptionsstreifen in gelb; ein starker und breiter Absorptionsstreifen in grün und dunkelblau. Somit: Oxyhämoglobin, Hämatoporphyrind und sehr wahrscheinlich auch Gallenfarbstoffe.

Inversion.

100 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 7,50 ‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = – 66°,00.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 0,00 ‰
3. Gärung. Glucose . . . . 20,50 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung:
7,50 : 66,00,
0,75 : 0,66, also ungefähr wie 1,0 : 9,0.

Bemerkungen: Das normale Blut verliert durch das Trocknen an Gewicht. Beim Blut der kranken Tiere findet beim Trocknen im Gegenteil eine Gewichtszunahme statt. Diese Gewichtszunahme rührt von der Absorption des Sauerstoffes der Luft durch das veränderte Hämoglobin des Blutes her.

Die Bestimmung des Eisens wurde mit dem Ferrometer von A. Jolles (Reichert, Wien) ausgeführt. Die Bestimmungen sind genau und können rasch mit einer minimalen Menge Blut von noch 0,05 ccm gemacht werden.

Durch Reduktion mit Fehlingscher Lösung wird kanariengelbes Cu_2O in sehr geringer Menge erhalten.

Es kann das Kohlehydrat durch die Gärung mit frischer Bierhefe nachgewiesen werden.

In gewissen Harnen treffen wir manchmal ebenfalls ähnliche schwach reducierende, aber gährfähige Kohlehydrate an. Es ist dies hier das erste Anzeichen des baldigen Auftretens verschiedenen Glykosuriearten usw. Diesen Zustand des Harns habe ich mit dem Worte „karbohydraturie“ oder „kohlehydraturie“ bezeichnet, und es kann derselbe Zustand für das Blut mit dem Worte „kohlehydrathaemie“ angedeutet werden.

Die Bestimmung der Glucose in den Inversionsflüssigkeiten des Blutes, herrührend von der Spaltung, von Glucosiden oder Proteiden, kann ebenfalls bloß mit Hilfe der Gärung ausgeführt werden, da hier die Reduktion und das Polarimeter ebenfalls ihren Dienst versagen.

Der unlöslich gebliebene Teil der Albuminate, herrührend von der Inversion des kranken Blutes und bei 95° C getrocknet, ist schwarz, glänzend und von harzartigem Aussehen. Es ist derselbe natürlich unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in Kali- oder Natronlauge. Dieser Teil des Blutes besteht aus dem Eisen des nicht gelösten oder peptonisierten Hämoglobins, und ferner aus den Gallenfarbstoffen des kranken Blutes.

Die alkalische Lösung, mit Wasser verdünnt, gibt im Spektroskop am blauen Ende rechts starke Absorptionsstreifen, herrührend offenbar von vorhandenen Gallenfarbstoffen. Das gesunde Blut gibt im blauen Ende rechts nur eine ganz schwache Absorption.

Die Aschen dieses unlöslichen Rückstandes sind stark rotgelb und bestehen vorzugsweise aus der Totalmenge des Eisens des Hämoglobins und des Oxyhämoglobins des Blutes.

Schlußfolgerung.

Der Parasit der Malaria bovina übt seine Wirkung vorzugsweise auf das Hämoglobin und das Albumin des Blutes aus, indem ein guter Teil des ersteren zerstört wird, unter Fixierung in dem ungelösten Teile des Gesamteisens und unter Verflüssigung des Hämoglobins und eines Teiles des Albumins.

Die präformierte gärungsfähige Kohlehydratmenge bleibt fast gleich, während ein Teil der Glucoside resp. ein Teil der Proteide eine rasche Abnahme erleidet.

Wir sehen, daß die polarimetrische Inversionsbeziehung für das Blut sehr kranker Tiere 7—8 mal größer ist als für das gesunde Blut, d. h., daß die Verflüssigung des Hämoglobins bei ersterem 7—8 mal größer ist als bei letzterem.

Zu bedauern ist nun hier, daß uns verschiedene wichtige Daten fehlen, um uns ein klares Bild über die Veränderung dieses Blutes während des Krankheitsprozesses zu machen.

XVII. Gesundes Pferdeblut.

Spezifisches Gewicht . . . . 1,01665.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl	Id + NaOH
Trockenrückstand	106,20‰	122,70‰	115,40‰
Asche	9,00 „	9,30 „	
Harnstoff		6,40 „	
Ureide		9,13 „	
Gesamtstickstoff		16,04 „	
Auf Albumin berechnet		100,24 „	
Reduktionskoeffizient in CuO		16,70 „	
Entsprechende reduzierende Substanz		7,60 „	
Gärung, Glucose		2,00 „	

Inversion.

A. 50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 15,45‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. **Polarimeter.** Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 45°,00.
2. **Reduktionskoeffizient** in CuO . . . . . 0,90‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 0,41 „
3. **Gärung.** Glucose . . . . 8,00 „
   Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden,
   Glucose . . . . 0,00 „
   Trockenrückstand . . . . 117,30 „
   Asche . . . . 9,40 „
   Gesamtstickstoff 11 163 ccm . . . . 14,02 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 87,63 „

B. 50 ccm + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 12,07‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. **Polarimeter.** Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 41,61.
2. **Reduktionskoeffizient** in CuO . . . . . 3,60‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 1,67 „

3. Gärung. Glucose . . . . 8,00 ‰
Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
Glucose . . . . 0,00 „
Trockenrückstand . . . . 122,50 „
Asche . . . . 9,70 „
Gesamtstickstoff 10 532,8 ccm . . . . 13,24 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 82,68 „

C. 50 ccm + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate . . . . 8,26 ‰
Asche unbekannt.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = — 8°,27.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 5,20 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 2,36 „
3. Gärung. Glucose . . . . 9,00 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 48 Stunden,
Glucose . . . . 0,00 „
Trockenrückstand . . . . 132,20 „
Asche . . . . 10,00 „
Gesamtstickstoff 9845 ccm . . . . 12,365 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 77,38 „

D. 50 ccm + 10 ccm Normalnatronlauge. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate: Spuren.

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Ablenkung unbekannt; Ablesung unmöglich.
2. Reduktionskoeffizient in CuO . . . . . 34,00 ‰
Entsprechende reduzierende Substanz . . . . 15,50 „
3. Gärung. Glucose . . . . 9,00 „
Trockenrückstand . . . . 115,60 „
Gesamtstickstoff 9619,3 ccm . . . . 11,98 „
Auf Albumin umgerechnet . . . . 74,88 „

1. Polarimetrische Inversionsbeziehung für:
A. 15,45 : 45,00,
1,54 : 4,50, also ungefähr wie 1,0 : 3,0.
B. 12,02 : 41,61,
1,20 : 4,16, also ungefähr wie 1,0 : 3,4.
C. 8,26 : 8,27,
0,83 : 0,83, also ungefähr wie 1,0 : 1,0.

2. Inversionsstickstoffbeziehung für:
A. 15,45 : 87,63,
1,54 : 8,76, also ungefähr wie 1,0 : 5,7.
B. 12,07 : 82,68,
1,21 : 8,27, also ungefähr wie 1,0 : 6,8.

C. 8,26 : 77,28,
0,83 : 7,73, also ungefähr wie 1,0 : 9,4.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:

A. 45,00 : 87,63,
4,50 : 8,76, also ungefähr wie 1,0 : 1,95.

B. 41,61 : 82,68,
4,16 : 8,27, also ungefähr wie 1,0 : 2,0.

C. 8,27 : 77,28,
0,83 : 7,73, also ungefähr wie 1,0 : 9,3.

4. Beziehung zwischen den Trockenrückständen für:

		Trockenrückstand	Id + HCl
A.	117,30 + 15,45 = 132,75	106,20‰	122,70‰
B.	122,50 + 12,07 = 134,57.		
C.	132,20 + 3,27 = 140,46.		
D.	115,60 + Spuren = 115,60 und Spuren.		

Hier ist die Summe der zwei ersten Glieder immer etwas größer als der Trockenrückstand des direkt oder unter Zusatz von Salzsäure eingedampften Blutes.

Dagegen gibt die mit Normalnatronlauge erhaltene Inversionsflüssigkeit bedeutend weniger Trockenrückstand als die salzsaure Inversionsflüssigkeit, was leicht begreiflich ist, da durch die Einwirkung des Alkalis auf das Blut im Wasserbade sich eine gewisse Menge von flüchtigen Ammoniakderivaten bilden muß.

Außerdem sehen wir, daß das Hämoglobin des Blutes sich sehr leicht löst, und daß die optische Aktivität in der Inversionsflüssigkeit für die zwei ersten Säuregrade bestehen bleibt, während für den dritten Säuregrad, also für C., die optische Aktivität außerordentlich abgeschwächt ist.

Dieses Blut enthält eine ziemliche Menge reduzierender Substanzen, während die Inversionsflüssigkeit davon nur sehr wenig aufweist. Dagegen ist die Menge der gärungsfähigen Kohlehydrate im Blute nur gering, während diese Menge für die Inversionsflüssigkeiten sehr bedeutend ist, und zwar ungefähr gleich groß für die drei verschiedenen Säuerungsgrade.

Bemerken wir noch, daß die alkalische Inversionsflüssigkeit eine sehr große Menge reduzierender Substanzen aufweist, während die Menge gärungsfähiger Kohlehydrate ungefähr für die sauren Inversionsflüssigkeiten die gleiche bleibt.

XVIII. Frisches und gesundes Pferdeblut.

Spezifisches Gewicht . . . . 1,01406.

	Direkte Verdampfung	Id + HCl
Trockenrückstand	110,60‰	127,10 ‰
Asche	10,50 „	10,50 „
Harnstoff	3,20 „	
Ureide	0,60 „	

Gesamtstickstoff 13 497,6 ccm	16,953 ‰
Auf Albumin umgerechnet	105,956 „
Albuminate, direkte Bestimmung	87,67 „
Asche dieser, Eisenoxyd	0,37 „
Reduktionskoeffizient in CuO	1,00 „
Entsprechende reduzierende Substanz	0,45 „
Gärung, Glucose	2,80 „

Inversion.

50 ccm + 2,5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliche Albuminate	15,87 ‰
Asche dieser, Eisenoxyd	0,26 „

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat ausgesprochener „grauer Zustand". Entfärbt mit Tierkohle. D = — 39°,58 ‰.

2. Reduktionskoeffizient in CuO	2,30 ‰
Entsprechend reduzierender Substanz	1,05 „
3. Gärung. Glucose	10,00 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden, Glucose	0,00 „
Trockenrückstand	102,55 „
Asche	9,55 „
Gesamtstickstoff 11 836,5 ccm	14,87 „
Auf Albumin umgerechnet	92,92 „
Albuminate, direkte Bestimmung	87,67 „

Filtrierte Flüssigkeit:

Polarimeter. Filtrat vollständig klar und farblos. D = — 25°0.

Trockenrückstand	28,30 ‰
Asche	9,20 „
Gesamtstickstoff 4008,4 ccm	5,035 „
Auf Albumin umgerechnet	31,47 „

Beziehungen:

1. Polarimetrische Inversionsbeziehungen:
   15,87 : 39,58,
   1,58 : 3,96, also ungefähr wie 1,0 : 2,5.
2. Inversionsstickstoffbeziehung:
   15,87 : 92,91,
   1,58 : 9,29, also ungefähr wie 1,0 : 5,8.
3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit:
   39,58 : 92,91,
   3,96 : 9,29, also ungefähr wie 1,0 : 2,3.
4. Beziehungen zwischen den Trockenrückständen:

	Trockenrückstand	Id + HCl
102,55 + 15,87 = 118,42 ‰;	110,60 ‰	127,10 ‰

Hier fällt die Summe der beiden ersten Glieder genau in die Mitte der zwei Trockenrückstände des Blutes ohne und mit Salzsäure.

Die Menge der Albuminate durch direkte Bestimmung ist gleich: 87,675 + 25,0 = 112,67.

Diese Quantität ist somit so ziemlich genau dieselbe wie die des Trockenrückstandes des Blutes, erhalten bei der Eindampfung ohne Zusatz von Salzsäure.

Der Gesamtstickstoff des Blutes, auf Albumin umgerechnet, gibt uns eine Menge von stickstoffhaltigen Substanzen gleich: 105,96‰. Somit findet hier keine Blutabnutzung statt, wenigstens scheinbar, dagegen finden wir eine leichte Zunahme über das Gewicht des Trockenrückstandes des Blutes, eine Zunahme, die gleich: 112,67 — 105,96 = 6,714‰ ist.

Somit scheint hier für die verschiedenen Bestandteile dieses Blutes ein gewisses Gleichgewicht zu bestehen.

Bemerkt sei noch, daß das Pferdeblut der vorhergehenden Analyse Nr. XVII nicht mehr ganz frisch war, und dies ist sehr wahrscheinlich der Grund, warum die Reduktion für jenes Blut bedeutend größer war als für dieses. Sonst sind alle anderen Resultate so ziemlich dieselben.

XIX. Punktionsflüssigkeit aus der Pleura.

Volumen	975,0 ccm
Spezifisches Gewicht	1017,63 „
Reaktion schwach alkalisch.	
Albumin	58,61‰
Trockenrückstand	68,96 „
Asche	8,44 „
Harnstoff	5,56 „
Chlornatrium	5,80 „
Reduktionskoeffizient in CuO	2,24 „
Entsprechende reduzierende Substanz	1,02 „
Gärung, Glucose	0,30 „

Inversion.

A. 100 ccm natürlich + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin . . . . 47,174‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Flüssigkeit etwas „grau". Ablenkung, D = — 3°00.
2. Reduktionskoeffizient fehlt.
3. Gärung. Glucose . . . . 0,40‰
   Trockenrückstand . . . . 26,50 „
   Asche . . . . 6,80 „
   Gesamtstickstoff . . . . 3,01 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 18,79 „

B. 100 ccm natürlich + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin . . . . 32,94‰

Inversionsflüssigkeit:

1. **Polarimeter.** Filtrat entfärbt mit Tierkohle. Flüssigkeit etwas „grau". D = — 6°,95.
2. **Reduktionskoeffizient** fehlt.
3. **Gärung.** Glucose . . . . 0,40 ‰
   Trockenrückstand . . . . 40,80 „
   Asche . . . . 7,56 „
   Gesamtstickstoff . . . . 4,25 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 25,94 „

C. 100 ccm zu $^1/_5$ verdünnt + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin . . . . 38,25 ‰.

Inversionsflüssigkeit:

1. **Polarimeter.** Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = 0,00° wahrscheinlich.
2. **Reduktionskoeffizient** nicht ermittelt.
3. **Gärung.** Glucose . . . . 1,50 ‰
   Trockenrückstand . . . . 36,30 „
   Asche . . . . 6,80 „
   Gesamtstickstoff . . . . 4,01 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 25,08 „

D. 100 ccm zu $^1/_5$ verdünnt + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin . . . . 19,67 ‰

Inversionsflüssigkeit:

1. **Polarimeter.** Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = 0,00° (sehr wahrscheinlich).
2. **Reduktionskoeffizient** fehlt.
3. **Gärung.** Glucose . . . . 2,20 ‰
   Trockenrückstand . . . . 57,20 „
   Asche . . . . 8,30 „
   Gesamtstickstoff . . . . 6,78 „
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 42,38 „

Beziehungen:

1. **Polarimetrische Inversionsbeziehungen** für:
   A. 40,17 : 3,00,
   4,02 : 0,30, also ungefähr wie 16,0 : 1,0.
2. **Inversionsstickstoffbeziehungen** für:
   A. 47,17 : 18,80,
   4,72 : 1,88, also ungefähr wie 2,5 : 1,0.
   B. 32,94 : 25,94,
   3,29 : 2,59, also ungefähr wie 1,3 : 1,0.
   C. 38,25 : 25,08,
   3,82 : 2,51, also ungefähr wie 1,5 : 1,0.

D. 19,67 : 42,38,
1,97 : 4,24, also ungefähr wie 1,0 : 2,2.

3. Polarazotische Beziehung der Inversionsflüssigkeit für:
A. 3,0 : 18,8,
0,3 : 1,88, also ungefähr wie 1,0 : 6,0.
B. 6,95 : 25,94,
0,69 : 2,59, also ungefähr wie 1,0 : 3,7.

4. Beziehungen zwischen den Trockenrückständen für:

	Trockenrückstand
A. 26,56 + 47,17 = 73,73‰;	68,96‰
B. 40,86 + 32,94 = 73,80 „ ;	
C. 36,30 + 38,25 = 74,55 „ ;	
D. 57,20 + 19,67 = 76,87 „ .	

Hier konstatieren wir sogleich, daß die Lösung des Albumins viel schwieriger ist als die der Proteinstoffe des Blutes eintritt. Außerdem verliert der in Lösung gegangene Teil in gemäßigten Konzentrationen vollständig seine optische Kraft und äußert dieselbe nur noch in geringem Grade für starke Konzentrationen,

Ferner ist die Hydratation bei der Hydrolyse sehr gering und die Verflüchtigung ist gleich null, wie sich dies aus der Summe der beiden ersten Glieder ergibt, die dem Trockenrückstand des Blutes fast gleich kommt.

Außerdem erscheint hier der für das peptonisierte Eiweiß vorzugsweise charakteristische Zustand schon bedeutend ausgeprägter als für die Inversionsflüssigkeiten des Blutes.

XX. Punktionsflüssigkeit der Pleura.

Volumen	720 ccm
Spezifisches Gewicht	1010 „
Reaktion schwach alkalisch.	
Albumin	9,476‰
Trockenrückstand	18,32 „
Asche	8,04 „
Chlornatrium	6,20 „

Polarimeter. Natürliche Flüssigkeit. Direkte Ablesung unmöglich. Flüssigkeit entfärbt mit Tierkohle. Ablenkung, D = — 7°64.

Reduktionskoeffizient in CuO	0,40‰
Entsprechende reduzierende Substanz	0,20 „
Gärung, Glucose	1,00 „

Inversion.

A. 100 ccm natürlich + 5 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin	2,61‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = 0,00°.

Gesamtstickstoff	1,288‰
Auf Albumin umgerechnet	8,05 „

B. 100 ccm natürlich + 10 ccm HCl. Offenes Gefäß.

Unlösliches Albumin . . . . 1,113‰

Inversionsflüssigkeit:

1. Polarimeter. Filtrat entfärbt mit Tierkohle. D = 0,00°.
   Gesamtstickstoff . . . . 1,436‰
   Auf Albumin umgerechnet . . . . 8,97 „
   Albumin, direkte Bestimmung . . . . . 9,47 „

Filtrierte Flüssigkeit:

Polarimeter. Filtrat farblos. Ablenkung, D = +1°,70.
Gesamtstickstoff . . . . 0,201‰
Auf Albumin umgerechnet . . . . 1,26 „

Beziehungen:

2. Inversionsstickstoffbeziehung:
   A. 2,61 : 8,05, also ungefähr wie 1,0 : 3,1.
   B. 1,00 : 8,97, also ungefähr wie 1,0 : 8,1.

Somit ist hier für eine geringe Albuminmenge die Lösung ziemlich ausgeprägt; ferner ist die optische Aktivität des peptonisierten Albumins gleich null.

XXI. Punktionsflüssigkeit.

Volumen . . . . 3350 ccm
Spezifisches Gewicht . . . . 1006 „
Ansehen opaleszent.
Reaktion ziemlich ausgeprägt alkalisch.
Albumin . . . . 2,334‰
Asche . . . . 7,720 „
Trockenrückstand . . . . 11,480 „

Aschenanalyse:

Kieselsäure und Silicate unlöslich in Salzsäure . . 0,057‰
Eisen und Albumin . . . . 0,193 „
Kohlensauren Kalk . . . . 1,648 „
Kohlensaure Magnesia . . . . 0,060 „
Chlorkalium und Chlornatrium . . . . 7,753 „
Phosphorsäure . . . . 0.251 „

Reduktionskoeffizient.

1. Natürliche Flüssigkeit.
   Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 1,900‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 0,864 „
2. Enteiweißte Flüssigkeit.
   Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 3,880 „
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 1,763 „

Inversion.

1. Natürliche Flüssigkeit, Filtrat.
   Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 4,140‰
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 1,882 „
2. Enteiweißte Flüssigkeit, Filtrat.
   Reduktionskoeffizient in CuO . . . . 4,660 „
   Entsprechende reduzierende Substanz . . . . . 2,118 „

Gärung.

1. Natürliche Flüssigkeit, Glucose . . . . 4,40‰
   Ende der Kohlensäurekondensation in 4 Tagen,
   Glucose . . . . 2,00 „
2. Enteiweißte Flüssigkeit, Glucose . . . . 2,80‰
   Ende der Kohlensäurekondensation in 4 Tagen,
   Glucose . . . . 1,20 „

Polarimeter.

1. Natürliche Flüssigkeit geklärt, aber nicht erhitzt. D = +1°,51.
2. Enteiweißte Flüssigkeit. D = +2°,20.

Inversion.

1. Natürliche Flüssigkeit. Filtrat. Ablenkung, D = −0°,85.
2. Enteiweißte Flüssigkeit. Filtrat. Ablenkung, ungewiß.

Ätherischer Auszug.

Es wurden 750 ccm Punktionsflüssigkeit zu wiederholten Malen, jedesmal mit 500 ccm Äther, 30 Minuten lang heftig und anhaltend durchgeschüttelt. Hierauf überläßt man die Emulsion 8 Tage sich selbst um eine gute Trennung der verschiedenen Schichten zu erreichen.

Wir erhalten so zwischen der unteren wässerigen Schicht und der oberen klaren ätherischen Schicht eine mittlere, weiße, gelatinöse Schicht, die mit einem Scheidetrichter von den beiden anderen Schichten getrennt wird.

Diese mittlere gelatinöse Schicht wird nun in einer Porzellanschale an der Luft der freiwilligen Verdunstung überlassen und der auf diese Weise erhaltene weiße Rückstand vorsichtig auf dem Wasserbade vollständig eingedampft. Wir erhalten so einen gelben, bröckelichen Rückstand, der das Ansehen von getrocknetem Casein hat. Sein Gewicht ist 0,4994 g.

Die zweite ätherische gelatinöse Extraktion gibt unter gleichen Umständen ebenfalls einen nicht unbedeutenden weißen Rückstand bei der freiwilligen Verdunstung an der Luft, und auf dem Wasserbade getrocknet wird derselbe ebenfalls gelb, ist aber weniger hart und zerbrechlich als der erste Rückstand. Sein Gewicht ist 0,356 g.

Wir haben nun für die verschiedenen ätherisch-gelatinösen Auszüge folgende Resultate:

erster ätherischer gelatinöser Auszug	0,4994 ·	0,666 ‰
zweiter „ „ „	0,3560 ·	0,475 „
dritter „ „ „	0,3616 ·	0,482 „
vierter „ „ „	0,3233 ·	0,431 „
fünfter „ „ „	0,2306 ·	0,307 „
sechster und siebenter ätherischer gelatinisierender Auszug, sogleich getrennt nach dem Mischen	0,9224 ·	1,231 „
	Total:	3,591 ‰

Wenn wir mit diesem Lösungsmittel weitere Auszüge machen, so erhalten wir offenbar noch eine gewisse Menge von emulsionierenden Substanzen. Wir sehen aber schon jetzt, daß die Summe dieser Rückstände pro Mill höher ist als das Gesamtgewicht des Albumins im Betrage von 3,591 g pro Liter und daß die organische Substanz bloß 3,76 g ausmacht.

Damit ist erwiesen, daß die Gesamtmenge der organischen Substanz vom Äther emulsioniert wird, und daß somit außer dem Albumin auch noch eine gewisse Menge der anderen stickstoffhaltigen Substanzen das gleiche Schicksal erfährt.

Die verschiedenen reinen und klaren ätherischen Auszüge, also die oberste Schicht, geben bei der freiwilligen Verdunstung an der Luft folgende Rückstände:

erster und zweiter ätherischer Auszug	0,2861 g
dritter, vierter, fünfter und sechster ätherischer Auszug .	0,4726 „
Total:	0,7587 g
also pro Tausend	1,012 „

XXII. Punktionsflüssigkeit.

Volumen	962 ccm
Reaktion alkalisch.	
Trockenrückstand	9,00 ‰
Albumin	0,91 „
Flüchtige Basen, salzsaure Salze	0,1074 „
In Äther löslicher Teil des Destillates	0,0037 „

Dieser Teil krystallisiert in feinen Nadeln und besteht nicht aus Fettsäuren.

XXIII. Punktionsflüssigkeit.

Spezifisches Gewicht	1010
Reaktion alkalisch.	
Trockenrückstand	23,98 ‰
Albumin	13,64 „
Chlornatrium	5,11 „
Andere Substanzen	5,23 „

Allgemeine Bemerkungen über diese Punktionsflüssigkeiten.

Diese Analysen zeigen, daß die Punktionsflüssigkeiten eine gewisse Menge eines flüchtigen Alkalis enthalten, dessen salzsaures Salz mit Platin-

chlorid rasch schöne, gelbe und glänzende Krystalle bildet, die eine Kombination von Hexaeder mit Oktaeder repräsentieren.

Ferner konstatieren wir, daß der Gesamtstickstoff des Destillates der Analyse Nr. XXI höher ist als die Summe des Stickstoffs von Harnstoff und den anderen stickstoffhaltigen Verbindungen, wie z. B. von Ammoniaks und dessen Derivaten, die ihren Stickstoff sogleich vollständig bei Gegenwart von Natriumhypobromit abgegeben. Diese Substanzen bestehen wahrscheinlich aus unvollständig oxydierten, flüchtigen, stickstoffhaltigen Substanzen, deren Natur jedoch genauer zu bestimmen, leider keine Zeit und keine Gelegenheit war.

Die Menge des flüchtigen Alkalis ist ganz bedeutend und erreicht für das Material der Analyse Nr. XXII 10 Zentigramm pro Liter, d. h. den 10. Teil des Trockenrückstandes.

Der Reduktionskoeffizient zeigt, daß die Punktionsflüssigkeit Nr. XXI ungefähr 2 g per Tausend reduzierende Substanzen enthält, und daß diese reduzierende Substanz sehr wahrscheinlich Glucose ist, da dieselbe gärt und das polarisierte Licht nach rechts ablenkt.

Der Trockenrückstand, erhalten durch Eindampfung auf dem Wasserbade, muß durch eine gewisse Menge Substanz vermehrt werden, da ein Teil des Rückstandes sich unter diesen Bedingungen verflüchtigt.

Was die in Äther löslichen Materien anbelangt, so bestehen dieselben in der Flüssigkeit Nr. XXI fast ausschließlich aus Fett und Fettsäuren.

Die Opaleszenz ist in erster Linie durch die Gegenwart von Fett und im weiteren durch die Eigenschaften des Albumins verursacht, sich mit Äther zu emulsieren.

XXIV. und XXV. Punktionsflüssigkeiten.

	Abdomen	Pleura
Volumen	240 ccm	375 ccm
Aussehen	opaleszent	id.
Reaktion	schwach alkalisch	stark alkalisch
Spezifisches Gewicht	1013	1017
Albumin	21,708‰	40,316‰
Trockenrückstand	34,780 „	50,900 „
Asche	8,480 „	8,760 „
Chlornatrium	5,700 „	5,600 „
Fett	9,084 „	6,224 „
Gärung, Glucose	2,400 „	2,000 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden, Glucose	0,400 „	0,200 „

Enteiweißte Flüssigkeiten.

	Abdomen	Pleura
Trockenrückstand	10,64‰	10,28‰
Asche	7,64 „	7,54 „

1. Polarimeter. Direkte Beobachtung.

	Abdomen	Pleura
Ablenkung, D =	$-0°,60$;	$-0°,30$.
2. Reduktionskoeffizient in CuO	0,400‰	1,100‰
Entsprechende reduzierende Substanz	0,182 „	0,500 „

Inversion.

	Abdomen	Pleura
Unlösliche Albuminate	16,45‰	28,20‰
Inversionsflüssigkeit:		
Trockenrückstand	18,72‰	26,40‰
Asche	7,00 „	6,90 „
1. Polarimeter. Direkte Beobachtung. D =	$-3°,29$‰;	$-8°,00$‰.
2. Reduktionskoeffizient in CuO	2,46‰	3,76‰
Entsprechend reduzierende Substanz	1,12 „	1,71 „
3. Gärung. Glucose	0,48 „	2,40 „
Ende der Kohlensäurekondensation in 24 Stunden, Glucose	0,12 „	0,40 „

Der Grund für die Opaleszenz dieser beiden Flüssigkeiten beruht ausschließlich in der Gegenwart bedeutender Fettmengen, wie aus der wiederholten Behandlung derselben mit Äther hervorgeht, da dieselben dann vollständig klar und ohne die geringste Opaleszenz zurückbleiben.

Weiter sehen wir, daß die Pleuraflüssigkeit zweimal mehr Albumin enthält als die Abdominalflüssigkeit, und daß diese Albumine dem Angriff der Salzsäure auf dem Wasserbade einen großen Widerstand entgegensetzen, da bei dem Pleurainhalt die Inversionsflüssigkeit nur noch 8° nach links ablenkt. Dieses zeigt, daß von den 40 g Albumin per Liter bloß 8 g gelöst werden, also bloß der 5. Teil, während die Inversionsflüssigkeit bloß noch 3,3° nach links ablenkt, so daß hier die Verflüssigung sogar noch geringer ist und nur ein Siebentel des Totalalbumins ausmacht.

Es scheint somit zwischen diesen zwei Albuminen eine gewisse Differenz zu existieren, in dem Sinne, daß das dem Abdomen entstammende Albumin schwerer als das der Pleura gelöst wird.

Die Gärung der natürlichen Flüssigkeiten ergibt ungefähr die gleiche Zuckermenge, dagegen finden wir für die Inversionsflüssigkeiten einen bedeutenden Unterschied in dieser Beziehung, nämlich derart, daß das gärungsfähige Kohlehydrat der invertierten Abdominalflüssigkeit zum guten Teil zerstört oder aber in nicht gärungsfähige Substanzen umgewandelt wird, während der präexistierende Pleurazucker dem Einflusse der Salzsäure widersteht und die Gärungsfähigkeit nicht eingebüßt hat.

Schluß.

Können wir, auf diese Analysen gestützt, eine Krankheit nach der chemischen Zusammensetzung des Blutes charakterisieren? Ich glaube die Frage bejahend beantworten zu sollen,

da dieses schon jetzt für gewisse typische Krankheiten sehr wohl möglich ist.

So ist z. B. der „schwarze Kardiaker“ von Abel Ayerza scharf gekennzeichnet, erstens durch die große Menge reduzierender Substanzen, die dieses Blut enthält, zweitens durch den enormen Verlust der Inversionsflüssigkeit beim Eindampfen auf dem Wasserbade an stickstoffhaltigen Substanzen, und drittens durch den stark ausgeprägten „grauen Zustand“ dieser Inversionsflüssigkeit. Außerdem zeigt dieses Blut einen sehr hohen Trockenrückstand, und die optische Aktivität der Inversionsflüssigkeit bleibt ziemlich bestehen.

Der zweite schwarze Kardiaker ist schon weniger typisch. Hier bleibt die optische Aktivität der Inversionsflüssigkeit vollständiger erhalten, die Verflüchtigung von stickstoffhaltigen Substanzen aus der Inversionsflüssigkeit ist geringer, aber dessenungeachtet immer noch hoch.

Die parenchymatöse akute und chronische Nephritis unterscheiden sich von der interstitiellen Nephritis dadurch, daß die ersteren bei den zwei verschiedenen Graden der zugefügten Säuremenge bei der Inversion sehr verschiedene Resultate für die ungelöste Menge von Albuminaten und für die gelöste Quantität geben, während für die interstitielle Nephritis unter diesen Umständen das Resultat so ziemlich das gleiche ist. Außerdem finden wir, daß für die parenchymatöse Nephritis eine „Blutabnutzung“ stattfindet, während für die interstitielle Nephritis eine solche nicht statthat. Doch kann als sicher betrachtet werden, daß, wenn dieselbe hier scheinbar nicht existiert, sie tatsächlich doch vorhanden ist; aber in diesem Falle überwiegen die stickstoffhaltigen Körper, die weniger Stickstoff im Molekel enthalten als das Albumin und das Hämoglobin, über die Zersetzungsprodukte des Albumins und des Hämoglobins.

Wir sehen ferner, daß zwischen der parenchymatösen akuten und der parenchymatösen chronischen Nephritis eine Differenz existiert. Die erstere weist im Blute eine große Menge reduzierender Substanzen auf und die Inversionsflüssigkeit gärt nur wenig, während für die zweite gerade das Gegenteil der Fall ist, namentlich trifft man in der Inversionsflüssigkeit eine große Menge von gärungsfähigen Kohlehydraten an.

Der hydatische eiternde Cyst unterscheidet sich von den zwei Fällen fetter Serosis dadurch, daß die bei der Hydrolyse erhaltene unlösliche Albuminmenge ungefähr das Doppelte des unlöslichen Albuminrückstandes der beiden Pälle von Serosis repräsentiert.

Der Nierenkardiaker ist dadurch gekennzeichnet, daß erstens das Resultat der Inversion bei beiden angewandten Säuremengen das gleiche, daß die Gärung der Inversionsflüssigkeit sehr ausgeprägt ist und daß ferner die reduzierenden Substanzen im natürlichen Blute sehr reichlich vorkommen.

In beiden Fällen von Uremie enthält das natürliche Blut keine reduzierenden Substanzen, und ein gleiches findet man für die Inversionsflüssigkeiten. In beiden Fällen ist die Resistenz des Albumins gegen Salzsäure sehr ausgeprägt, und die Gärung ist für die Inversionsflüssigkeiten null, wenigstens für das Material der Analyse Nr. IX.

Sobald wir über weitere derartige, aber noch genauere Analysen verfügen und namentlich über solche, wo gleichzeitig auch das Serum untersucht ist, können wir uns ein schärferes Bild von den chemischen Blutveränderungen bei einer Krankheit machen, was ohne Zweifel für den Arzt von großer Wichtigkeit ist.

Diese Studien können aber, im Verein mit Herrn Prof. Dr. Abel Ayerza, nur fortgesetzt werden, wenn der hohe Senat der Medizinischen Fakultät von Buenos Aires die Mittel für die Ausführung gewährt.

Buenos Aires, Juni 1907.

Über die Zusammensetzung des Hungerharns.

Von

E. P. Cathcart,

Grieve Lecturer on chemical Physiology a. d. Universität Glasgow, Schottland.

(Eingegangen am 18. Juli 1907.)

Die Veränderungen in der Zusammensetzung des Harns und besonders die der stickstoffhaltigen Substanzen während des Hungers sind oft Gegenstand der Untersuchung gewesen. Leider ist bei den meisten der beobachteten Fälle nicht der Versuch gemacht worden, eine vollständige Analyse durchzuführen.

An dem bekannten Hungerkünstler Succi sind nicht weniger als fünfmal Untersuchungen angestellt worden, und zwar von: 1. Luciani, 2. Lo Monaco, 3. Daiber, 4. E. und O. Freund und endlich 5. Brugsch. 6. Lehmann, Müller, Munk, Senator und Zuntz studierten an Cetti und Breithaupt. 7. Hooven und Sollmann haben einen Fall von Hunger während des hypnotischen Schlafes untersucht. Die Wirkung des Hungers auf Frauen ist studiert worden: 8. von Van Hoogenhuyse und Verploegh im Falle La Tosca, 9. von Bönniger und Mohr an Schenk, und ganz kürzlich haben 10. E. Benedict und Diefendorf den Fall S. H., eines Patienten im Connecticut Hospital, Middletown, U. S. A., untersucht.

Die vorliegende Untersuchung unterscheidet sich von allen vorausgegangenen dadurch, daß die Versuchsperson eine Woche, ehe das eigentliche Fasten begann, mit einer sogenannten purinfreien, stickstoffhaltigen Standarddiät — wie sie Folin[1]) angibt — er-

[1]) Die stickstoffreiche Diät vor dem Hunger bestand in:

Vollmilch	500 ccm
Sahne (ca. 20% Fett) .	300 „
Eier (Weiß und Dotter)	450 g
Horlicks-Malz-Milch . .	200 „
Zucker	20 „
NaCl	6 „
Wasser	ad 2000 ccm.

nährt wurde, deren Wirkung auf die Zusammensetzung des Harns bekannt war. Dieser Zeit der Ernährung folgte ein zweiwöchentliche Hungerperiode und dieser wiederum noch eine Woche normaler Ernährung. Die Standarddiät), die vor der Hungerperiode verabfolgt wurde, habe ich aus zwei Gründen gewählt: 1. ist die Diät sehr schmackhaft und wurde daher von der Versuchsperson willig genommen, und 2. gaben mir die analytischen Daten, die Folin aus einer langen Reihe von Beobachtungen über die Zusammensetzung des Harns so ernährter Personen erhalten hat, Normalwerte für den Vergleich. Am Ende der Fastperiode wurde die Versuchsperson auf eine andere purinfreie und stickstofffreie (?) Diät, die auch von Folin (11) in seiner Arbeit angewendet wurde, gesetzt. Leider ist diese Diät für manche Versuchspersonen nicht sehr schmackhaft, und im vorliegenden Falle mußte sie nach 3 Tagen unterbrochen werden, da der Mann sich weigerte, sie länger einzuhalten. Die Diät bestand aus 300 ccm Sahne, gemischt mit 400 g Stärke (reinem Arrowroot). Ehe die Stärke mit der Sahne vermischt wird, wurde sie mit Malzdiastase behandelt; auf diese Weise erhält man eine schwach süße Masse, die im warmen Zustande flüssig, im kalten halbflüssig ist. Da die Versuchsperson sich weigerte, diese Stärke-Sahnendiät fortzusetzen, wurde sie wieder auf die während der ersten Woche des Experiments verabfolgte stickstoffhaltige Nahrung gesetzt.

Die Versuchsperson.

Die Versuchsperson, Victor Beauté, war deutscher Abkunft und 31 Jahre alt. Er war berufsmäßiger Hungerkünstler. Zwei Monate vor Beginn des hier beschriebenen Hungerns hatte er eine 40tägige Fastzeit (39 Tage, 15 Stunden) durchgemacht, die, soweit ich weiß, ganz natürlich war. Die Protokolle des betreffenden Arztes wurden geprüft und sie zeigten eine ständige Abnahme des Körpergewichts an. Der Hungerkünstler wurde in einer öffentlichen Ausstellung in einem kleinen Hause aus Holz und Glas beobachtet. Beauté gab an, im ganzen etwa 18 Hungerperioden, gewöhnlich von ca. dreiwöchentlicher Dauer, durchgemacht zu haben.

Er war ein Mann von ziemlich gut entwickelter Muskulatur und mit nur wenig Übermaß an Fettpolster an allen Körperteilen.

Sein Gesundheitszustand war gut. Bei vollständiger Körperuntersuchung, die unter Assistenz des Herrn Dr. F. J. Charteris ausgeführt wurde, konnte nichts Abnormes entdeckt werden — Herz, Lungen und Nieren waren gesund. Auch geistig kann er als gesund betrachtet werden. Er nahm lebhaftes Interesse an den Beobachtungen und erleichterte die Untersuchung mit allen ihm zu Gebote stehenden Mitteln.

In bezug auf die Echtheit der gegenwärtigen Hungerleistung habe ich nicht den geringsten Zweifel (der Verlauf der Ausscheidung von verschiedenen Harnbestandteilen, besonders des Totalstickstoffs und des Chlors, unterstützt diese Ansicht). Die Vorsichtsmaßregeln, die zur Vermeidung eines Betruges getroffen wurden, waren vollkommen. Während der ganzen Dauer des Experiments wohnte er in einem gut beleuchteten und warmen Zimmer, welches Dr. Charteris mir in seinem eigenen Hause zur Verfügung gestellt hatte. Hier war er von jeder Versuchung, besonders von der Außenwelt, abgeschlossen. Ferner war er während der Hungerperiode unter strenger Bewachung; bei Tage wurde er von Prof. Noël Patons und meinen eigenen sehr zuverlässigen Studenten beobachtet; bei Nacht hatte er eine besondere Pflegerin als Wache. Herzlichen Dank schulde ich den Studenten, die mich bei dieser Aufsicht unterstützten, und Prof. Paton, der mir verschiedene Erleichterungen gewährte. Da keine geeigneten Apparate zur Untersuchung des Gasstoffwechsels vorhanden waren, so gestattete man Beauté, die ihm zur Verfügung stehende Zeit nach Belieben zu verleben. Er verbrachte die meiste Zeit lesend. Auf seinen besonderen Wunsch wurden ihm Zigaretten — bis zu zwei täglich — erlaubt. Mit Ausnahme der ersten zwei Tage berührte er den Tabak während des Hungerns kaum.

Zu keiner Zeit hat sich Beauté über Schmerzen, die ihm aus dem 14tägigen Hungern erwuchsen, beklagt. Am Ende der ersten Woche klagte er über etwas Steifheit der rechten Schulter und Seite, aber dieses Unbehagen schwand im Laufe des Tages. Die objektiv sichtbaren Folgen des Hungerversuches waren gering, sie bestanden im Verlust von Fett und in einem unruhig gespannten Blick, vereint mit einer ziemlich starken Verdunkelung der Infraorbitalregion. Die subjektiven Zeichen waren auch leicht. Er beklagte sich über schlechten Geschmack im Munde und bekam

deshalb eine einfache Mundspülung. Die Zunge blieb die 14 Tage hindurch ziemlich unbelegt. Am 4. Tage des Hungerns klagte er über Mattigkeit und etwas Kopfschmerzen und sträubte sich am Morgen aufzustehen. Am 5. Tage ging es ihm besser, und erst am 12. Tage klagte er wieder und sagte, er fühle sich schwach und würde bei raschen Bewegungen schwindlig. Wegen dieses Schwindels wurde er den ganzen 13. und 14. Tag praktisch im Bett gehalten. Es sei hier vermerkt, daß er in der 2. Woche im Schlafe sehr unruhig war, mit den Zähnen knirschte und viel prach. Er gab an, sehr oft von Nahrung geträumt zu haben.

Gewicht. Die beigefügte Tabelle (Tabelle I) zeigt den Gewichtsverlust in seinen täglichen Änderungen vom 16. Januar 1907, dem dem Beginn des Hungerns vorangehenden Tage, ab. Die Wägung wurde jeden Abend zur selben Stunde an der völlig entkleideten Versuchsperson vorgenommen.

Tabelle I.

Datum	Hungertag	Gewicht in kg	Tägl. Abnahme
Januar 16.	—	65,61	—
„ 17.	I.	64,57	1,04
„ 18.	II.	63,72	0,85
„ 19.	III.	62,77	0,95
„ 20.	IV.	61,96	0,81
„ 21.	V.	61,41	0,55
„ 22.	VI.	60,83	0,58
„ 23.	VII.	60,23	0,60
„ 24.	VIII.	60,04	0,19
„ 25.	IX.	59,80	0,24
„ 26.	X.	59,11	0,69
„ 27.	XI.	58,64	0,47
„ 28.	XII.	58,64	0,00
„ 29.	XIII.	58,37	0,27
„ 30.	XIV.	57,78	0,59

Man sieht, daß die Abnahme des Gewichts in den ersten 4 Tagen sehr rapid ist, dann schreitet sie noch fort, wird aber mehr oder weniger unregelmäßig. Am 11. und 12. Tage ist das Gewicht gleich. Bei Cetti zeigte sich am 6. und 7. Tage eine ähnliche Eigentümlichkeit. Es ist außerordentlich schwer, für

diese anomale Erscheinung einen Grund anzugeben, da der Gewebszerfall beständig andauert (siehe Tabelle III). Die deutschen Forscher glauben, daß es in ihrem Falle einer großen Menge Wasser zuzuschreiben sei, die am 7. Tage getrunken wurde. Im vorliegenden Falle hatte ich an einen ähnlichen Grund gedacht, obgleich es hier etwas schwerer war, die gleiche Erklärung anzunehmen, da Beauté jeden Tag dasselbe Quantum Wasser zu sich nahm. Die gefüllte Blase konnte nicht der Grund sein, da ich selbst sah, daß er vor dem Wiegen die Blase entleerte. Es ist jedoch von einigem Interesse zu bemerken, daß an diesem Tage des gleichen Gewichts die Harnausscheidung geringer war als während der ganzen Versuchsdauer, daher ist wahrscheinlich das konstante Gewicht der in den Geweben zurückgehaltenen Flüssigkeit zuzuschreiben. Beauté selbst sagte mir, daß bei mehreren vorangegangenen Hungerperioden das gleiche Zusammentreffen bemerkt worden war. Seine Aussage wurde — in einem Falle wenigstens — durch Prüfung eines alten Protokolls bestätigt. Der Gesamtverlust an Gewicht während der 14 Tage betrug 7,83 kg, was einen prozentischen Verlust von 11,93 des Anfangsgewichts darstellt. Die tägliche Abnahme belief sich auf 0,85 g. Tabelle II zeigt zu Vergleichszwecken die Ziffern, die von Senator und anderen an Cetti und Breithaupt und von Luciani an Succi erhalten waren (im vorliegenden Falle sind die Ziffern für die ersten 14 Tage berechnet worden).

Tabelle II.

Versuchsperson	Dauer des Hungerns	Gewicht in kg		Totalverlust	% Verl.	Täglich % Verl.
		am Anfang	am Ende			
Beauté	14	65,61	57,78	7,83	11,93	0,85
Succi (Luciani) 1.	14	63,3	54,85	8,45	13,34	0,95
„ „	30	63,3	51,2	12,1	19,11	0,63
Cetti (Munk-Senator)	10	57,0	50,65	6,35	11,14	1,11
Breithaupt (Munk-Senator)	6	60,07	56,45	3,62	6,02	1,00

In Tabelle III ist die Menge des verlorenen Gewichts in Form von Protein und von Muskelfleisch aus der Totalausscheidung des Stickstoffes berechnet worden; der tägliche Totalverlust ist ebenfalls angegeben.

Tabelle III.

Tag des Hungerns	Tägl. Verlust an Gewicht g	N-Aussch. g	N-Aussch. als Protein	N-Aussch. als Muskel-Substanz
			(N×6,25)	(N×6,25×5)
I.	1040	10,51	65,68	328,5
II.	850	14,38	89,87	449,4
III.	950	13,72	85,75	428,8
IV.	810	13,72	85,75	428,8
V.	550	11,30	70,62	353,1
VI.	580	10,77	67,31	336,5
VII.	600	9,67	60,44	302,2
VIII.	190	9,52	59,91	297,5
IX.	240	9,39	58,69	293,4
X.	690	8,38	52,38	261,8
XI.	470	8,49	53,06	265,3
XII.	000	8,77	54,81	274,0
XIII	270	8,97	56,06	280,3
XIV.	590	7,78	48,62	243,1

Körpermessungen. Die tatsächlichen Körpermessungen vor und nach dem Hungern sind in Tabelle IV angegeben. Man wird bemerken, daß der größte Verlust am Unterleib in der Nabelgegend stattgefunden hat. Veränderung irgend eines inneren Organs wurde nicht festgestellt — weder durch Perkutieren noch durch Auskultieren. Es wurde auch der Versuch gemacht, mit Röntgenstrahlen eventuell Veränderungen in der Gestalt des Magens festzustellen — aber ohne Erfolg, auch bei Anwendung von Wismut. Beautés Muskelkraft schien durch den 14tägigen Hunger nicht viel gelitten zu haben, da er am Abend des 14. Tages mit größter Leichtigkeit zwei 25 Kilogewichte durch die ganze Länge seines Zimmers (zwischen 5 und 6 m) trug.

Tabelle IV.

Ort der Messung	In Zentimetern: vor dem Hungerversuch	In Zentimetern: nach dem Hungerversuch	Differenz
Brust in der Ruhe (unter den Brustwarzen)	89,0	84,0	5,0
Unterleib (am Nabel)	87,5	75,0	12,5
Rechter Arm (an Axelgrube)	29,25	26,0	3,25
Linker „ („ „)	28,2	26,0	2,2
Rechter Oberarm (15 cm über Olekranon)	28,0	26,0	2,0
Linker „ (15 „ „ „)	28,0	25,5	2,5
Rechter Unterarm (7,5 „ unter „)	26,0	24,0	2,0
Linker „ (7,5 „ „ „)	25,5	23,5	2,0
Rechter Schenkel (30 cm unt. spina ilea ant. sup)	51,0	48,25	2,75
Linker „ (30 „ „ „ „ „ „)	51,0	47,5	3,5
Rechtes Bein (30 cm von der Erde, barfuß)	36,2	33,6	2,6
Linkes „ (30 „ „ „ „ „)	36,8	33,5	3,3
Nacken (am unteren Rand) Cartilago thyreodea	35,5	34,25	1,25

Puls, Atmung, Temperatur. Die hauptsächlichste Angabe, die über die Beschaffenheit des Pulses zu machen ist, ist die eines entschiedenen Sinkens im Laufe des Experiments (siehe Tabelle V). Das durchschnittliche Sinken betrug etwa 15 Schläge in der Minute. Die größte Abweichung vom normalen Puls fand am 12. Tage statt — ein Sinken von 19 Schlägen in der Minute. In der Atmungsweise war während der Hungerzeit tatsächlich keine Veränderung eingetreten. Die Temperatur war durchweg leicht subnormal. Puls, Atmung und Temperatur (im Munde) wurden abends und morgens zur gleichen Zeit kontrolliert, wobei die Versuchsperson immer dieselbe Stellung einnehmen mußte. Wie aus Tabelle V ersichtlich ist, differierte der Morgenpuls nicht wesentlich vom Abendpulse. Das Morgenmaximum war 70 am 7. Tage und das Minimum 58 am 12. und 14. Tage. Das gleiche finden wir bei der Atmung; sie schwankt zwischen 14 und 16 in der Minute. Die Temperatur am Morgen war im allgemeinen niedriger als die am Abend.

Blutdruck. Der Blutdruck wurde einmal täglich, am Abend immer zur selben Stunde, gemessen. Das dazu benutzte Instrument war Prof. C. J. Martins Modifikation des Riva-Roccischen Apparates. Ein ziemlich beständiges Sinken des Druckes wurde während der Hungerperiode beobachtet, obgleich dieses Sinken nicht ganz konstant war. Die verzeichneten Angaben sind das Resultat von 4—6 Beobachtungen in jedem Falle (Tabelle V).

Da Beauté sich im Hause des Dr. Charteris befand, übernahm dieser es freundlicherweise, eine Blutuntersuchung während des Hungerns für mich vorzunehmen. Eine Arbeit, die über die Resultate dieser Beobachtungen berichtet, wird in kurzer Zeit von Dr. Charteris veröffentlicht werden. Untersuchungen wurden über das Hämoglobin, über die Zahl der roten und weißen Zellen, über die Veränderung letzterer und über Opsonine angestellt.

Beauté klagte ebenso wie andere Hungerkünstler sehr stark über Kälte. Dies war keine bloße Einbildung, da zu verschiedenen Zeiten ganz deutlich eine „Gänsehaut" zu sehen war, trotzdem sein Zimmer immer gut geheizt wurde — und zwar unangenehm warm für normale Individuen.

Tabelle V.

Tag d. Hungerns	Pulsschlag i. d. Minute		Atmungen i. d. Minute		Temperatur F°		Blutdruck
	Morgen	Abend	Morgen	Abend	Morgen	Abend	Abend
0	—	77	—	19	—	98,6	108
I	—	70	—	19	—	98,4	108
II	65	71	17	17	98,0	98,0	96
III	68	68	16	16	97,4	98,4	98
IV	65	64	15	16	97,6	98,3	98
V	63	66	14	17	97,4	98,2	92
VI	68	65	15	17	97,2	98,2	94
VII	70	64	16	18	97,2	97,9	88
VIII	68	61	15	17	97,0	98,2	90
IX	64	63	14	17	97,2	98,2	88
X	65	57	14	14	97,0	98,0	92
XI	60	63	14	20	97,0	98,0	88
XII	58	58	15	17	97,0	98,2	94
XIII	60	60	15	18	97,2	98,2	90
XIV	58	61	14	18	97,0	98,0	88[1])

[1]) 5 Tage später war der Blutdruck 104.

Harnuntersuchung.

Es wurde stets die 24stündige Harnmenge gesammelt, mit Ausnahme von 4 Fällen, wo Versuche über die tägliche Veränderung in der Stickstoffausscheidung angestellt wurden. Die an diesen Tagen erzielten Resultate waren nicht sehr entscheidend (man wird sie am Ende in einem kurzen Anhang finden), und da die angewandten Methoden von den üblichen abwichen, sind die Zahlen (mit Ausnahme der für den Gesamtstickstoff) in den Übersichtstabellen nicht verzeichnet. Die in Frage kommenden Tage waren der 5., 9. und 13. Tag des Hungerns sowie der 26. Tag (6. Tag vom Ende der Hungerperiode) des ganzen Experiments.

Der während der 14tägigen Hungerdauer gesammelte Harn war insofern ganz charakteristisch, als er eine graduelle Abnahme der Stickstoffausscheidung aufwies.

Menge. Die tägliche Ausscheidung des Harns vor Beginn des Hungerns erfolgte in normaler Menge (Tabelle VI). Während des Versuches nahm die Ausscheidung sehr bedeutend ab (dasselbe war von früheren Beobachtern, z. B. von E. und O. Freund, gefunden worden) und erreichte ihren tiefsten festgestellten Stand

am 12. Tage, wo die ausgeschiedene Menge bloß 600 ccm betrug. Diese Tatsache ist um so bemerkenswerter, als Beauté jeden Tag dieselbe Menge Flüssigkeit — 1000 ccm Wasser — zu sich nahm. Diese geringe Harnabsonderung kann vielleicht der geringen Menge diffusionsfähiger Körper im Blute zugeschrieben werden. Wie Munk bei der Durchströmung einer ausgeschnittenen Niere mit dem Blute eines ausgehungerten Hundes fand, war keine Harnabsonderung möglich, ehe dem Blute Salze zugesetzt wurden. Die Menge des Harns, die an den ersten der Beendigung der Hungerperiode unmittelbar folgenden Tagen ausgeschieden wurde, war subnormal, darauf vermehrte sie sich jedoch plötzlich, und am 6. Tage nach der Hungerperiode wurden fast zwei Liter ausgeschieden.

Tabelle VI.

Datum 1907	Tag der Untersuchung	Menge des ausgeschiedenen Harns in ccm	Spez.Gew. des Harns	Diät	Menge d. aufgen. Flüssigkeit in ccm
Jan. 14.	—	1478	1021	Eier u. Milch	2000 (Diät)
„ 15.	—	1050	1026	—	2000
„ 16.	—	1410	1022	—	2000
„ 17.	I.	1370	1012	Hunger	1500 (Wasser)
„ 18.	II.	1585	1013	—	1500
„ 19.	III.	1160	1019	—	1270
„ 20.	IV.	935	1021	—	1185
„ 22.	VI.	850	1020	—	1000
„ 23.	VII.	680	1021	—	1000
„ 24.	VIII.	660	1021	—	1000
„ 26.	X.	965	1012	—	1000
„ 27	XI.	640	1020	—	1000
„ 28.	XII.	600	1018	—	1000
„ 30.	XIV.	685	1015	—	1000
„ 31.	—	765	1010	Stärke u. Sahne	1500 (Diät)
Febr. 1.	—	740	1008	—	1000
„ 2.	—	865	1008	—	1000
„ 3.	—	800	1016	Eier u. Milch	1500
„ 4.	—	1155	1017	—	1500

Der Harn vom 5., 9. und 13. Hungertage ist aus den vorstehend angegebenen Gründen nicht berücksichtigt worden.

Das spezifische Gewicht des Harns schwankte zwischen

1012 am ersten Hungertage und 1021. Der niedrigste Stand, wo das spezifische Gewicht bloß 1008 war, wurde am 2. und 3. Tage nach der Hungerperiode erreicht. An diesen Tagen war der Stickstoffgehalt des Harns außerordentlich gering.

Während der ganzen Hungerzeit hatte eine Flüssigkeitszufuhr von 16055 ccm und eine Ausscheidung durch die Nieren von 12855 ccm stattgefunden; es bleiben 3200 ccm zur Ausscheidung durch die Lungen und die Haut. Dieser Überschuß erlaubt aus dieser Quelle allein eine tägliche Ausscheidung von 228 ccm durch diese Poren. Ferner muß man bedenken, daß unter diesen Umständen noch eine weitere ziemlich reiche Quelle für Wasserversorgung im Zerfall der Gewebe, des Eiweißes usw. vorhanden ist.

Folgende Methoden wurden zur Bestimmung der verschiedenen Bestandteile des Harns angewandt:

Der Gesamtstickstoff wurde nach Kjeldahl ermittelt, Harnstoff nach Folin, Harnsäure nach Hopkins - Folin, Ammoniak nach Folin - Schaffer, Gesamtpurine nach Camerer - Arnstein, Kreatinin und Kreatin calorimetrisch, Chlor nach Volhard, P_2O_5 durch Titration mit Uranacetat. Gesamtschwefel, neutraler Schwefel, anorganischer Schwefel und Äthersulfate wurden durch Bariumchlorid unter Benutzung der von Folin eingeführten Modifikationen ermittelt und die Acidität durch Titration mit $n/_{10}$-NaOH bei Gegenwart von Kalium-Oxalat unter Anwendung von Phenolphthalein als Indicator. In den meisten Fällen wurden die Analysen doppelt ausgeführt.

Gesamtstickstoff. Die durchschnittliche tägliche Ausscheidung des Gesamtstickstoffes während der stickstoffhaltigen Standarddiät an den vier der Hungerperiode vorangehenden Tagen betrug 16,29 g, während die am letzten Tage der Ernährung ausgeschiedene Menge 16,45 g betrug. Diese Tatsache und die Verteilung der anderen verschiedenen Stickstoffbestandteile stimmen sehr genau mit den Resultaten überein, die Folin bei Anwendung dieser Diät an verschiedenen Personen erzielte. Daher kann Beauté als ein normales, gesundes Individuum betrachtet werden, und dieser Umstand macht natürlich die während der Hungerperiode erzielten Ergebnisse sehr interessant. Man nehme z. B. den Harn des Dr. Aug. H. (einer normalen Person) in Tabelle V aus Folins Arbeit und vergleiche ihn mit demjenigen Beautés (siehe Tabelle VII).

Tabelle VII.

	Gesamt-N	Harnstoff-N	Ammoniak-N	Kreatinin-N	Harnsäure-N
Dr. Aug. H.	16,8	14,7	0,54	0,53	0,16
Beauté	16,45	14,6	0,52	0,53	0,17

Die Übereinstimmung in der Stickstoffausscheidung beider Individuen bei derselben Diät tritt außerordentlich deutlich zutage. Am ersten Hungertage fiel die Stickstoffausscheidung auf 10,51 g, am zweiten Tage stieg sie plötzlich auf 14,38 g. Dieses Resultat stimmt sehr genau mit den Ergebnissen von Prausnitz (13) und mit seiner Theorie überein, daß die Stickstoffausscheidung in den ersten Hungerstunden bis zu gewissem Grade bei dem Organismus verzögert ist, der an einem Vorrat von Kohlehydratstoffen zehrt. Der Steigerung folgte, wie dies gewöhnlich der Fall ist, ein beständiges, tägliches Sinken bis auf 8,38 g am 10. Tage; dann nahm aus irgend einem Grunde während der nächsten 3 Tage die Ausscheidung leicht zu, um dann wieder zu fallen und zwar tiefer als an irgend einem vorangegangenen Tage (siehe Tafel IX). Das Resultat der stickstofffreien Stärke- und Sahnendiät war sehr markant; am ersten Nahrungstage sank die Stickstoffausscheidung, jedoch nicht sehr erheblich — an den zwei folgenden Tagen fand jedoch ein außerordentlich starkes Fallen statt. Am 2. Tage betrug die Ausscheidung weniger als die Hälfte von derjenigen am letzten Hungertage, und am 3. Tage fiel die Ausscheidung auf weniger als ein Drittel von der am letzten Hungertage. Ob sie noch weiter herabgesunken wäre, ist schwer zu sagen; ich wurde an der Feststellung verhindert, da Beauté sich entschieden weigerte, die Diät auch nur eine Stunde länger fortzusetzen. Der tatsächliche niedrige Stand der Stickstoffausscheidung ist nicht so sonderbar wie die Plötzlichkeit des Sinkens. Folin erzielte bei einigen seiner Experimente mit der Stärke- und Sahnendiät mehrere sehr niedrige Stickstoffausscheidungen und — in einem Falle wenigstens — eine noch niedrigere Ausscheidung als die vorliegende. Dieses Individuum, Dr. E. S. A., Tabelle III in Folins Arbeit, schied am 5. und 7. Tage der Diät einen Urin aus, der sehr stark dem Beautés am 3. Tage der Diät

ähnelt. In Tabelle VIII sind die Ziffern zum Vergleich aufgeführt.

Tabelle VIII.

	Gesamt-N	Harnstoff-N	Ammoniak-N	Kreatinin-N	Harnsäure-N
Dr. E. S. A., 5. Diättag	2,7	1,6	0,34	0,43	0,08
7. „	2,8	1,7	0,28	0,41	0,08
Beauté 3. Diättag	2,84	1,76	0,31	0,41	0,14

Wie aus der Tabelle klar zu ersehen ist, geht die Ähnlichkeit sehr weit, und zwar bei allen Bestandteilen mit Ausnahme der Harnsäure, deren Ausscheidung fast doppelt so groß ist. Ein näheres Eingehen auf dieses Ergebnis wird jedoch für später vorbehalten. Bei der Wiederaufnahme der Eier- und Milchdiät stieg die Ausscheidung sofort bis zur dreifachen Menge des vorangegangenen Tages. Diese Steigerung ist etwas plötzlicher als die in Folins Normalfällen. Diese Ausscheidung war gerade halb so groß wie bei derselben Diät vor dem Beginn der Hungerperiode; es hat also eine ganz gewaltige N-Retention stattgefunden. Die Menge der Ausscheidung nahm in den nächsten Tagen ständig zu, da das Bedürfnis der Gewebe befriedigt wurde. Am 7. Tage nach dem Hungern betrug die Stickstoffausscheidung 12,19 g.

Harnstoff. Tabelle IX zeigt, daß die Ausscheidung des Harnstoffs sehr stark der Kurve der Ausscheidung des Gesamtstickstoffs folgt. Diese Tatsache ist am Ende der Arbeit auf einer Karte sehr deutlich demonstriert. Ebenso wie beim Gesamtstickstoff fällt die Ausscheidung des Harnstoffs ständig bis zum 10. Tage, an dem hier wie dort eine vorübergehende Steigerung, dann aber ein Sinken stattfindet. Wieder war wie beim Gesamtstickstoff die Schnelligkeit des Fallens nach dem Beginn der Stärke- und Sahnendiät sehr bemerkenswert; die Menge des am 3. Tage ausgeschiedenen Harnstoffs betrug nur 1,7 g. Genau wie beim Gesamtstickstoff stieg die Ausscheidung des Harnstoffes bei der Aufnahme der eiweißhaltigen Diät wieder. Sehr interessant sind die Resultate, wenn man die Harnstoffausscheidung prozentual zum Gesamtstickstoff betrachtet.

Tabelle IX.

Tag des Experiments	Ausscheidung des Stickstoffs in g von: Gesamt-N	Harnstoff	Ammoniak	Harnsäure	Gesamt-Purin	Kreatinin	Kreatinin u. Kreatin	% Gesamt-Stickstoff in g: Harnstoff	Ammoniak	Harnsäure	Gesamt-Purin	Kreatinin	Kreatinin u. Kreatin	Rest-N	Bemerkungen
3.	17,25	15,06	0,62	0,12	0,199	—	—	87,28	3,61	0,74	1,15	—	—	—	Eier- u. Milch-Diät
4.	15,81	13,83	0,62	0,15	—	0,52	0,52	87,41	3,95	0,95	—	3,30	3,25	—	
5.	16,64	13,33	0,58	0,15	0,189	0,48	0,51	85,19	3,72	0,98	1,21	3,11	3,27	6,61	
6.	16,45	14,60	0,52	0,17	—	0,52	0,53	88,78	3,16	1,04	—	3,16	3,24	—	
I.	10,51	8,96	0,40	0,12	0,149	0,42	0,44	85,22	3,83	1,14	1,42	4,04	4,21	5,32	Hunger
II.	14,38	12,65	0,67	0,06	0,114	0,39	0,50	87,93	4,66	0,42	0,79	2,72	3,47	3,15	
III.	13,72	12,26	0,73	0,06	0,092	0,34	0,43	89,35	5,32	0,46	0,67	2,51	3,20	1,46	
IV.	13,72	11,23	1,30	0,08	0,139	0,35	0,52	81,81	9,51	0,63	1,01	2,58	3,80	3,87	
V.	(11,30)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
VI.	10,77	8,39	1,35	0,10	0,141	0,33	0,43	77,87	12,58	0,92	1,31	3,10	4,01	4,23	
VII.	9,67	7,36	1,22	0,12	0,150	0,34	0,42	76,03	12,63	1,26	1,55	3,57	4,42	5,37	
VIII.	9,52	6,76	1,41	0,12	0,151	0,32	0,43	71,00	14,88	1,32	1,58	3,41	4,57	7,97	
IX.	(9,39)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
X.	8,38	6,02	1,17	0,16	0,199	0,29	0,37	71,82	13,99	1,95	2,38	3,57	4,46	7,35	
XI.	8,49	6,26	1,10	0,16	0,209	0,30	0,38	73,73	12,95	1,88	2,46	3,55	4,47	6,39	
XII.	8,77	6,62	1,05	0,17	0,193	0,30	0,39	75,34	12,06	1,98	2,20	3,46	4,46	5,94	
XIII.	(8,97)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
XIV.	7,78	5,99	0,73	0,17	—	0,24	0,34	76,99	9,38	2,18	—	3,08	4,37	7,08	
1.	7,43	5,80	0,52	0,24	0,338	0,38	0,40	78,08	7,04	3,24	4,55	5,15	5,46	4,87	Stärke- und Sahnen-Diät
2.	3,58	2,29	0,35	0,18	0,209	0,39	0,38	64,01	9,84	5,03	5,83	10,90	10,61	9,42	
3.	2,84	1,76	0,31	0,14	—	0,40	0,41	61,97	10,91	4,93	—	14,08	14,43	7,76	
4.	8,46	6,98	0,32	0,16	0,160(?)	0,39	0,41	82,50	3,78	1,89	1,89	4,61	4,83	7,00	Eier- u. Milch-Diät
5.	9,39	7,68	0,36	0,15	0,172	0,36	0,38	81,80	3,83	1,59	1,83	3,83	4,04	8,50	

Wie in **Folins** Arbeit über den normalen Harn, ist der Harnstoff hier die einzige stickstoffhaltige Substanz, welche ein relatives wie absolutes Sinken bei einer Abnahme des Gesamteiweißstoffwechsels erfährt. Ehe die Hungerzeit begann, können die prozentuale und die absolute Harnstoffausscheidung (siehe Tabelle IX) als vollständig normal angesehen werden. Der hohe Prozentsatz des Harnstoffs hält während der drei ersten Hungertage an, allerdings besteht eine kleine Steigerung in der prozentischen Ausscheidung. Am ersten Hungertage findet ein geringes Fallen in der prozentischen Ausscheidung statt, jedoch immer noch innerhalb normaler Grenzen. Am 2. Tage erfolgt eine kleine Erhebung, und am 3. Tage erreichte sie während der jetzigen Untersuchung ihr Maximum. Dieser Steigerung folgt ein lebhaftes Fallen, welches bis zum 8. Tage anhält, und nun folgt wieder eine Steigung, die bis zum Ende der Hungerperiode andauert. Am 1. Tage der Ernährung folgt eine weitere Steigerung von 1—2%, ihr folgt jedoch am 2. Tage ein plötzliches Fallen von 78 auf 64% und am 3. Tage weiter bis auf 62%. Am 4. Tage, an dem mit der eiweißhaltigen Diät begonnen wurde, stieg die prozentische Ausscheidung, wie zu erwarten war, fast bis zur Norm, von 62 auf 82,5%.

E. und O. **Freunds** Ergebnis unterschied sich vom vorliegenden durch die Langsamkeit des prozentischen Fallens. Vom 1. bis zum 14. Hungertage bildete der Harnstoff über 80% der Stickstoffausscheidung, dann trat ein mehr oder minder plötzliches Sinken bis 71% ein. Die geringste Ausscheidung, 56%, fand am 20. Hungertage statt, und am 21. und letzten Tage stieg sie auf 58% der Gesamtstickstoffausscheidung.

Ammoniak. Die Durchschnittsausscheidung des Ammoniakstickstoffs während der vier der Hungerperiode vorangehenden Tage betrug 0,58 g täglich. Gerade wie beim Gesamtstickstoff und beim Harnstoff fand am 1. Hungertage ein deutliches Sinken der Ammoniakausscheidung statt. Es folgte eine ständige Steigerung bis zum 8. Tage, dann verminderte sich die Ammoniakausscheidung fortschreitend bis zum Ende des Experiments. Die Ernährung mit der Stärke- und Sahnendiät vergrößerte diese Abnahme, und selbst die Wiederaufnahme der eiweißhaltigen Diät vermehrte kaum die Ammoniakausscheidung. Betrachtet man die Ammoniakstickstoffausscheidung prozentual zum Gesamt-

stickstoff, so findet man ein andauerndes Steigen bis zum 8. Tage, welchem, wie bei der absoluten Menge, ein leichtes, aber ständiges Sinken bis zum Ende der Hungerzeit folgt. Bei Wiederaufnahme der Ernährung dauerte das Sinken am 1. Tage an, aber am 2. Tage fand eine Steigerung von 7% auf 10% und am 3. Tage bis auf 11% statt. Die eiweißhaltige Diät brachte ein plötzliches Fallen der prozentualen Menge des ausgeschiedenen Ammoniaks von 3,8% zuwege.

Die Zunahme im Prozentsatz des Ammoniaks entspricht praktisch dem Sinken im Prozentsatz der Harnstoffausscheidung, und, wie man bemerken wird, findet mit der prozentisch fallenden Harnstoffausscheidung eine prozentisch steigende Ammoniakausscheidung statt und umgekehrt. Wie man später sehen wird, hatte der Hunger die Ausscheidung von Aceton und Acetessigsäure und wahrscheinlich auch von β-Oxybuttersäure (Brugsch) zur Folge, und diese würden der Zunahme im Prozentsatz des Ammoniaks entsprechen. Es fand ein ständiges Sinken der Ausscheidung anorganischer Säuren statt. Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem Zerfall der Fette und Kohlehydrate (Gesamtgewichtsverlust, Eiweißverlust, Fette, Kohlehydrate usw.) und der Ammoniakausscheidung konstatiert werden. Was die Harnacidität betrifft, so setzt die Abnahme der Gesamtsäuren einen oder zwei Tage vor dem Fallen der Ammoniakausscheidung ein. Die Ammoniakausscheidung während der drei Stärke-Sahnendiättage entspricht nicht dem Fallen der Harnstoffausscheidung. In diesem Falle muß man die anderen stickstoffhaltigen Bestandteile — Kreatinin und Harnsäure — in Betracht ziehen, um das Defizit zu decken.

Die Freunds kamen in ihrer Beobachtung an Succi zu einer ganz anderen Schlußfolgerung. Diese Forscher konnten während des Hungerns gar keine Zunahme der Ammoniakausscheidung finden — die einzige Zunahme, die sie konstatierten, war etwa 2%.

Purinstickstoff. Der vorliegende Versuch zeigte ebenso wie viele frühere während der ersten Tage des Hungerns ein Sinken der Harnsäureausscheidung. Die Ausscheidung endogener Harnsäure an den dem Hungern vorangehenden Tagen, als Beauté auf purinfreie Diät gesetzt war, war sehr konstant. Während dieser Tage betrug die Ausscheidung 0,15, 0,15 und 0,17 g Harn-

säurestickstoff, welche Ziffern sehr genau mit der Standardausscheidung endogener Harnsäure übereinstimmen, die Burian und Schur (14) angeben. Die Gesamtpurinausscheidung war auch tatsächlich konstant, wenigstens den beiden Zahlen 0,199 am 3. Tage der Untersuchung und 0,189 am 5. Tage (siehe Tabelle IX) nach zu urteilen. Am 1. Tage des Hungerns fiel die Harnsäureausscheidung auf 0,12 g; es folgte ein weiteres Fallen von 0,06 g am 2. und 3. Tage, dann begann ein Steigen, das bis zum Ende der Untersuchung anhielt — die Daten betrugen 0,08 g am 4. Tage bis 0,17 g am 14. und letzten Tage des Hungerns. Der Verlauf der Ausscheidung der Gesamtpurine folgt in der Tat der Kurve, welche die Harnsäure beschreibt; die Tafel am Ende dieser Arbeit zeigt dies deutlich.

Burian und Schur behandeln in ihrer ausführlichen und interessanten Arbeit über endogene und exogene Harnsäureausscheidung die Frage, ob die Harnsäureausscheidung während des Hungerns als vollständig normal angesehen werden darf. Wegen des Zerfalles von Muskelgewebe gelangt Hypoxanthin in den Blutstrom und wird als Harnsäure ausgeschieden. Sie sind der Ansicht, daß dieser Prozeß während der Ernährung sich nicht im selben Maßstabe abspielt. Sie schreiben in der Übersicht über ihre Versuche: „Im Hunger wird ja der ganze Ablauf des Stoffwechsels zweifellos sehr stark alteriert. Speziell bezüglich der Purinkörperbildung können wir uns, wie oben erwähnt, einerseits vorstellen, daß im Hunger abnorme Alloxurkörperquellen in Tätigkeit treten, indem eine Einschmelzung xanthinbasenhaltigen Materials (Muskel usw.) Platz greift: der Harnsäurehungerwert wäre dann größer als der endogene Harnsäureanteil desselben Individuums unter den gewöhnlichen Ernährungsbedingungen. Anderseits wäre es aber ebensogut möglich, daß so wie zahlreiche andere Stoffwechselvorgänge auch die Bildungsprozesse der endogenen Harnpurine im Hungerzustande eingeschränkt werden, und somit der Harnsäure-„Hungerwert" hinter der endogenen Harnsäuremenge zurückbleibt."

Und dann beschließen sie endlich ihre Bemerkungen über diesen Gegenstand mit den Worten: „Nach all dem Vorstehenden dürfen wir den Harnpurin-„Hungerwert" nicht als Ausdruck der endogenen Harnpurinausscheidung betrachten."

Burian und Schur ziehen alle ihre Schlüsse aus Arbeiten, die vor der ihrigen gemacht wurden, sowohl mit alten als modernen analytischen Methoden. Sie führten keine einzige eigene Untersuchung aus. In der langen wiedergegebenen Anführung geben sie dann zu, daß in den Resultaten, die sie aus der Untersuchung der Purinausscheidung während des Hungerns erhielten, einmal die endogene Purinausscheidung steigen kann, wenn der Organismus unter normalen Bedingungen auf purinfreier Diät gehalten wird, und ein andermal die Ausscheidung geringer sein kann als die normale endogene. Sie machen keinen Versuch, das Problem zu lösen. Folin — man sehe seine Arbeit über die Gesetze, die die Zusammensetzung des Harns bestimmen — kommt durch eigene Ergebnisse bei der Ernährung mit der stickstoffhaltigen und stickstofffreien (?) und purinfreien Diät zu dem Schlusse, daß es sehr fraglich ist, ob die ganze ausgeschiedene Harnsäure — sogar unter normalen Bedingungen — ihren Ursprung in dem Zerfall des lebenden Protoplasmagewebes hat. Auch Ranke (15) fand bei seinen Beobachtungen, daß die Harnsäureausscheidung bei stickstofffreier Diät größer als beim Hunger war. Hofmann erzielte ähnliche Resultate.

Zur Erklärung der in vorliegender Untersuchung erlangten Daten: Nemser (16) gibt in einer vor einigen Jahren veröffentlichten Arbeit an, daß der während des Hungerns dem Verfall am längsten widerstehende Teil der Zelle der Nucleinanteil ist. Auf diese Weise können wir, wenn Nemsers Ergebnisse zuverlässig sind, erklären, wie mit fortschreitendem Hunger eine Steigerung in der Ausscheidung bis zur schließlich wirklichen endogenen Purinbildung stattfindet. Es würde sich dann ergeben — und dies beweisen meine Ergebnisse der Vorhungerperiode und die Resultate von Hirschfeld (17), Burian und Schur und vieler anderer Forscher —, daß trotzdem die endogene Harnpurinausscheidung für ein gegebenes Individuum mehr oder weniger konstant ist, dieser Status bloß gültig ist, wenn die Versuchsperson sich unter gewöhnlichen Ernährungsbedingungen befindet. Während des Hungerns findet augenscheinlich nicht derselbe ständige Verfall von purinbildenden Stoffen statt wie bei der Ernährung. Während des Hungerns ist der Körper für seine gesamte Nahrungsversorgung auf die eigenen Gewebe angewiesen, und es hat den Anschein, als benützte er sie in der Weise, daß

er mit denen beginne, die zurzeit den geringsten Wert haben, indem er sich die wertvolleren so lange wie möglich aufbewahrt. So kommt es, daß in den ersten Hungertagen die Harnpurinausscheidung sehr abnimmt, das Hauptprotoplasma, wahrscheinlich zum größten Teil aus Muskel, bildet ebenso wie natürlich auch aus den nicht stickstoffhaltigen Körpern, den Fetten und Kohlehydraten, der Hauptnahrungsquelle, die Gewebe mit meist wenig Purinstickstoff. Mit fortschreitendem Hunger kann der Körper diese Stoffe nicht mehr so leicht bekommen; daß der allgemeine Stickstoffstoffwechsel vermindert ist, beweist die graduelle Abnahme der Gesamtstickstoffausscheidung. Zu gleicher Zeit mit diesem Fallen im Gesamtstickstoff findet ein Steigen der Harnpurinausscheidung statt. Dies kann die Erklärung dafür geben, daß der Körper jetzt seine wertvolleren Quellen beansprucht; die Nucleine, Quellen der Purinversorgung, werden nun samt anderen Geweben herangezogen, um ihre Quote an Energie abzugeben. Burian und Schur betrachten das Hypoxanthin der Muskelgewebe als sehr wichtigste Quelle für die Harnpurine. Es mag wohl sein, daß dies während der ersten Hungertage die einzige oder Hauptversorgungsquelle ist, aber bei längerer Hungerperiode müssen andere Quellen herangezogen werden.

In der folgenden Tabelle (Tabelle X) habe ich versucht, die Menge des endogenen Purins zu berechnen, welches man aus dem Verfall der Eiweißgewebe erwarten kann. Die Gesamtharnstickstoffausscheidung ist in bezug auf die entsprechende Quantität Muskel berechnet worden. Unter Benutzung der von Burian und Schur in ihrem Nahrungsexperiment im Muskelfleisch gefundenen Zahlen habe ich 0,03 g Purinstickstoffausscheidung für 100 g Muskelgewebe angenommen. Die tatsächliche Menge müßte größer als 0,03 g sein, da Voit (18) und Tominaga (19) und andere gezeigt haben, daß Organe wie Milz und Leber, purinreiche Organe, sehr durch den Hunger mitgenommen werden. Diese Organe haben in der Tat einen größeren prozentischen Verlust als das Muskelgewebe. Aus diesem Grunde habe ich in einer zweiten Aufstellung den endogenen Harnpurinstickstoff berechnet mit 0,06 g Purinstickstoff auf 100 g Eiweißgewebe.

Tabelle X.

Hungertag	Eiweißgewebe Ges.-N ×6,25×5	Purin-Stickstoff 0,03 % (Muskel)	Purin-Stickst. 0,06 % (Muskel u. Drüsen)	Tatsächliche Ausscheidung	
				Harnsäure	Ges.-Purin
I.	328,5	0,098	0,197	0,12	0,15
II.	449,4	0,134	0,269	0,06	0,11
III.	428,8	0,128	0,256	0,06	0,09
IV.	428,8	0,128	0,256	0,08	0,14
V.	353,1	0,106	0,212	—	—
VI.	336,5	0,100	0,200	0,10	0,14
VII.	302,2	0,090	0,180	0,12	0,15
VIII.	297,5	0,089	0,178	0,12	0,15
IX.	293,4	0,088	0,176	—	—
X.	261,8	0,078	0,156	0,16	0,20
XI.	265,3	0,079	0,158	0,16	0,20
XII.	274,0	0,082	0,164	0,17	0,19
XIII.	280,3	0,084	0,168	—	—
XIV.	243,1	0,073	0,146	0,17	(0,19?)

Die Ziffer der Ausscheidung des ersten Tages kann außer acht gelassen werden, da sie wahrscheinlich größtenteils der einfachen Ausspülung von in den Geweben angesammeltem Purinstickstoff zuzuschreiben ist. Bei Prüfung der berechneten Zahlen wird man bemerken, daß eine ständige Abnahme in der möglichen Menge von disponiblem Purinstickstoff vorhanden ist, während man bei Betrachtung der Kolonnen, die die Menge des tatsächlich ausgeschiedenen Purinstickstoffes enthalten, ein ständiges und konstantes Steigen in der Ausscheidung findet (ferner kann man die Purinstickstoffausscheidung prozentual zum Gesamtstickstoff auf Tabelle IX vergleichen. Siehe auch van Hoogenhuyze und Verploeghs Resultate mit La Tosca). Aus diesen Ziffern schließe ich denn, daß Gewebe oder Teile von Geweben, die reich an der oder den Muttersubstanzen von endogenen Harnpurinen sind, herangezogen werden. Ferner wird man bemerken, daß die erhaltenen Zahlen — wenigstens die vom 11. Hungertage bis zum Ende des Experiments — identisch sind mit dem, was man die tatsächliche endogene Purinstickstoffausscheidung nennen kann zur Zeit, als der Mann vor Beginn des Hungerns auf reichlicher purinfreier Diät gehalten wurde. Aus dieser Beobachtung (ich bin mir all der Trugschlüsse und Irr-

tümer, die allen aus Beobachtungen gezogenen Schlüssen anhaften, wohl bewußt) kann gefolgert werden, daß, wenn auch während der ersten Tage des Hungerexperiments die Purinstickstoffausscheidung gering ist, sie, wenn die Hungerwirkung lange genug andauert, doch wieder konstant wird. Im vorliegenden Falle stimmt diese Konstante mit der endogenen Harnpurinstickstoffziffer überein, die bei einer standardpurinfreien Diät vor begonnenem Hunger gewonnen wurde.

Bei Beendigung des Hungerns und der darauffolgenden Wiederaufnahme der Ernährung mit der stickstofffreien, purinfreien Diät findet eine plötzliche Steigerung in der Harnpurin-Stickstoffausscheidung statt. Woran liegt diese Steigerung? Liegt sie einfach an einer stärkeren Ausspülung der Gewebe oder liegt sie, wie Mares (20) vor vielen Jahren angab, daran, daß die Purinausscheidung nach dem Hungern bei Wiederaufnahme der Nahrung zunimmt durch Reiz zum Zerfall des Drüsengewebes, besonders seitens des Verdauungskanals. Sie kann kaum der einfachen Ausspülung der Gewebe zugeschrieben werden, da der Mann nicht viel mehr Flüssigkeit als gewöhnlich zu sich nahm, und dann bestand auch kaum irgend eine Steigerung in der Menge des ausgeschiedenen Harns. Natürlich war die frühere, während des Hungerns genommene Flüssigkeit Wasser, während hier die Diät wahrscheinlich mehr oder weniger anreizend war. Dieser plötzlichen Steigerung folgt ein leichtes Fallen, dem wiederum nach 2 Tagen eine sehr geringe Steigerung folgt. Die Harnsäurestickstoffausscheidung vom 2. Ernährungstage bis zum Ende des Experiments könnte fast als die normale endogene Menge angesehen werden. Man wird sich erinnern, daß bei der Abhandlung über die Gesamtstickstoffausscheidung während der Stärke- und Sahnendiät — Tabelle VIII zeigte die Übereinstimmung mit einigen von Folins Normaltabellen — man die einzige Abweichung in den Zahlen für den Harnsäurestickstoff fand. Ich glaube, daß bei Beauté die größere Ausscheidung der andauernden Reizung der Purinstickstoffausscheidung zuzuschreiben ist, und außerdem muß man in Betracht ziehen, daß die Ausscheidung des Purinstickstoffes — sogar während der eiweißhaltigen Diät — bei Dr. E. S. A. gering ist.

Wie die folgende Tabelle zeigt, gleicht die Harnsäure den größten Teil des ausgeschiedenen Gesamtpurinstickstoffes aus

(siehe Tabelle XI). Leider mißlang die Gesamtpurinanalyse des 14. Tages gänzlich, und da die Camerer-Arnstein-Methode eine ziemlich große Menge Harn erfordert, konnte die Untersuchung nicht wiederholt werden. Man wird bemerken, daß in den vier ersten Tagen die Ausscheidung der Purinkörper — mit Ausnahme der Harnsäure — höher ist als zu irgend einer anderen Zeit. Später besteht keine sehr große Variation in der Menge des Purinstickstoffes, außer der Harnsäure, die täglich ausgeschieden wird.

Tabelle XI.

Hungertag	Harnsäure-N.	Ges. Purin-N.	Ges. Purin-N Harnsäure-N
I	0,12	0,149	0,029
II	0,06	0,114	0,054
III	0,06	0,092 [1])	0,032
IV	0,08	0,139	0,059
V	—	—	—
VI	0,10	0,141	0,041
VII	0,12	0,150	0,030
VIII	0,12	0,151	0,031
IX	—	—	—
X	0,16	0,199	0,039
XI	0,16	0,209	0,049
XII	0,17	0,193	0,023
XIII	—	—	—
XIV	0,17	—	—

[1]) Einzige Analyse.

Andere Beobachtungen über Purinausscheidung während des Hungerns sind nicht zahlreich. Die genaueste Untersuchung, die mir bekannt ist, stammt von E. und O. Freund an Succi. Ihr Ergebnis war etwas anders als das vorliegende, obgleich auch hier eine Tendenz zur Regelmäßigkeit in der täglichen Ausscheidung des Harnäurestickstoffes, besonders ausgesprochen vom 9. bis zum 18. Tage, vorhanden ist. Die Menge des ausgeschiedenen Purinstickstoffes — außer Harnsäurestickstoff — ähnelt sehr stark den oben in Tabelle XI für Beauté angegebenen Zahlen. Es ist jedoch ein Unterschied im prozentischen Verhältnis von Harnsäure und Gesamtstickstoff. Bei Succi bildete der Harnsäure-

stickstoff 1,4% des Gesamtstickstoffes, „normale Größe“ (ob diese „normale Größe“ bei purinfreier Diät oder nicht purinfreier erreicht wurde, ist nicht gesagt). Von 1,7% am 1. Hungertage fällt der Prozentsatz auf 0,88% am 9. Tage, dann beginnt eine Steigerung, welche die Norm mit 1,4% am 15. Tage erreicht und bis auf 1,6% am 21. Hungertage steigt. Van Hoogenhuyze und Verploegh fanden bei ihrer Untersuchung von La Tosca, daß die Harnsäureausscheidung in ihrer absoluten Menge nach einem geringen Sinken in den ersten Hungertagen allmählich wuchs. Dies stimmt überein mit meinen an Beauté erzielten Ergebnissen, sie fanden jedoch nicht dieselbe Konstanz in der Ausscheidung. Ferner fand bei Beendigung des Hungerns und Wiederaufnahme der Nahrung eine sehr plötzliche Steigerung der Harnsäureausscheidung statt. Bei Vergleich dieses Falles mit dem Beautés muß man in Betracht ziehen, daß La Tosca bei drei getrennten Gelegenheiten Muskelübungen verrichtete, welche sicher einigen Einfluß auf die Harnsäureausscheidung hatten (siehe S. 442).

Kreatinin und Kreatin. Im vorliegenden Falle behält die Ausscheidung von Kreatinin nicht die Regelmäßigkeit bei, welche sie, wie Folin gezeigt hat, unter normalen Bedingungen — sei es bei stickstoffhaltiger oder nicht stickstoffhaltiger Nahrung — besitzt. Hier sinkt das vorgebildete Kreatinin vom Anfang bis zum Ende des Hungerns, sogar am ersten Hungertage findet man ein ganz deutliches Sinken. Die Höchstausscheidung des vorgebildeten Kreatinins betrug 0,42 g am 1. Hungertage und die Mindestausscheidung 0,24 g am letzten Hungertage. Eine leichte Steigerung folgte der Wiederaufnahme der Nahrung am Ende des Experimentes.

Zur gleichen Zeit, als die Bestimmungen des Kreatinins gemacht wurden, wurde der Harn auf Kreatin untersucht, und zwar nach Folin (21). Aus der folgenden Tabelle (Tabelle XII) geht hervor, daß sogar während der ersten Hungertage eine ganz bemerkenswerte Menge Kreatin im Harn vorhanden gewesen zu sein scheint. Die Kreatinausscheidung ist ein wenig unregelmäßig, zeigt aber nicht dieselbe Tendenz, mit fortschreitendem Hunger ständig abzunehmen. Die Durchschnittsausscheidung — berechnet als Kreatinin — ist etwa 0,1 g. Mit Zunahme des Hungers nimmt die Kreatinausscheidung sehr erheblich ab und

mit Wiederaufnahme der Nahrung beträgt die Durchschnittsausscheidung dann etwa 0,015 g.

Tabelle XII.

Tag d. Exp.	Vorgeb. Kreatinin-N g	Kreatinin-N u. Kreatin-N g	Kreatin-N g	Diät
6.	0,52	0,53	0,01	Eier und Milch
I.	0,42	0,44	0,02	Hunger
II.	0,39	0,50	0,11	
III.	0,34	0,43	0,09	
IV.	0,35	0,52	0,17	
VI.	0,33	0,43	0,10	
VII.	0,34	0,42	0,08	
VIII.	0,32	0,43	0,11	
X.	0,29	0,37	0,08	
XI.	0,30	0,38	0,08	
XII.	0,30	0,39	0,09	
XIV.	0,24	0,34	0,10	
1.	0,38	0,40	0,02	Stärke u. Sahne
2.	0,39	0,38	0,01	
3.	0,40	0,41	0,01	
4.	0,39	0,41	0,02	Eier und Milch
5.	0,36	0,38	0,02	

Kreatinin ist hierbei als Kreatin bestimmt und berechnet worden.

Seitdem meine Beobachtungen über das Vorhandensein von Kreatin im Harn während des Hungerns gemacht wurden, sind einige Angaben von F. G. Benedict (22) in bezug auf diesen Punkt erschienen. In seiner Arbeit erwähnt Benedict, daß das Erscheinen von Kreatin beim Hunger vollkommen von Folin — nach Beobachtung an einem Hungernden — bestätigt worden ist (es ist jedoch kein Bericht dieses Falles veröffentlicht worden). Die Kreatinmengen, die Benedict fand, stimmen ziemlich gut mit meinen Resultaten überein, die Ausscheidung variierte zwischen 0,03 und 0,16 g. Die Kreatinausscheidung wuchs stufenweise mit fortschreitendem Hunger (7 Tage Dauer). Beim vorgebildeten Kreatinin nahm die Ausscheidung, gerade wie bei Beauté, ständig ab. Bei Wiederaufnahme der Milchnahrung nahm die Menge des ausgeschiedenen Kreatinins zu, erreichte aber wieder wie bei Beauté nicht die vor begonnenem Hunger ausgeschiedene Menge. Kreatin wurde noch in kleiner

Menge gefunden, nachdem die Ernährung wieder aufgenommen war; es war auch schon in kleiner Menge vorhanden, ehe die Hungerperiode begann. In einer seiner Arbeiten sagt Benedict: „Wie in einer Diskussion über Kreatinbestimmungen bei Hungerkünstlern[1]) ausgeführt ist, scheint die Kreatinausscheidung während des Hungerns das Resultat der Auflösung des Fleisches zu sein, und diese Hypothese wurde dadurch bestärkt, daß bei der Umsetzung oder dem Zerfall des Fleisches das in dem Fleische als solches vorhandene Kreatin auch als solches ausgeschieden und nicht vom Organismus in Kreatinin umgewandelt wurde. Nach dieser Hypothese haben daher das Kreatin und das Kreatinin des Harns zwei vollkommen klare Quellen." In einer anderen Arbeit zeigt Benedict, daß die Kreatininausscheidung bei gewissen pathologischen Zuständen mehr oder weniger konstant erfolgt. Da der experimentelle Beweis jedoch bis jetzt noch zu unvollständig ist, wie Benedict sagt, würden die bisherigen Ergebnisse eher dafür sprechen, daß Kreatin ausgeschieden wird bei starker Einschmelzung, hier beim Zerfall des Fleisches.

Eine Durchsicht von Benedicts Fällen, in denen Beobachtungen über Kreatinausscheidung gemacht wurden, zeigten, daß ein großer Teil als unterernährt bezeichnet war, aber mit nur einer Ausnahme sind keine Einzelheiten der Diät angegeben, außer daß sie sowohl kreatin- als kreatininfrei war. Natürlich hat Benedict Folins Arbeit als Ausgangspunkt für seine Theorie genommen, daß das Kreatin, das aus dem Zerfall des Fleisches entsteht, als solches — und nicht zu Kreatinin umgewandelt — ausgeschieden wird. Folin fand, daß die Zufuhr von Kreatin per os keinerlei Steigerung des Harnkreatinins hervorbrachte, aber man muß bedenken, daß Folin ganz außerstande war, das ganze verabfolgte Kreatin wiederzufinden. Ohne weitere Beweise denke ich denn, daß Benedicts Hypothese als solche nicht bestehen bleiben kann.

Die Art der Nahrung scheint bei der Ausnutzung des Kreatins eine gewisse Rolle zu spielen — wenigstens des durch den Mund gegebenen —, wie Folin schon ausgeführt hat. Dieser Forscher war mit dem Problem beschäftigt, ob Kreatin ein Nahrungs-

---

[1]) Bezieht sich auf eine Diskussion in einem Bericht über Hungerstoffwechsel, der noch nicht veröffentlicht worden ist.

mittel ist oder nicht. Bei stickstoffarmer Nahrung, bei der Stärke- und Sahnendiät fand er, daß eine größere Retention von Kreatin stattfand als bei stickstoffreicher Diät. Kann es indessen nicht sein, daß bei den verschiedenen geprüften Fällen — natürlich nicht bei denen, wo Kreatin zugeführt wurde, und namentlich während des Hungerns — irgend eine wesentliche Substanz in der Diät abwesend oder in unzureichender Menge anwesend ist, um die Umwandlung von Kreatin in Kreatinin zu besorgen? Folin hat in seiner Originaldiskussion ausgeführt, daß normale Personen Kreatinin und nicht Kreatin ausscheiden. Ist es nicht möglich, daß diese Kreatinausscheidung (beim Hunger z. B.) etwa analog der Ausnutzung der Eiweißzersetzungsprodukte durch den Körper ist? Lüthje (23) hat kürzlich ausgeführt, daß, ehe diese Spaltprodukte vom Körper ausgenutzt werden und auf diese Weise das „ganze" Eiweiß ersetzen können, Kohlehydrate in genügender Menge vorhanden sein müssen. Bayliss und Starling (24) lenken in einer kürzlich erschienenen Arbeit die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, daß man nicht berechtigt ist, eine Diät einfach nach ihrem calorimetrischen Wert und nach ihrem Gehalt an Fett, Kohlehydraten und Eiweiß zu bewerten. Hopkins (25) hat auch in einer Arbeit über einen Ernährungsversuch mit Zein angegeben, daß ein Körper wie Tryptophan ausgenutzt werden kann, ohne direkt zur Gewebebildung oder zur baulichen Erhaltung beizutragen; „wenn es als Basis zur Erzeugung einer zum Leben durchaus notwendigen Substanz diente, z. B. von der gleichen Bedeutung wie Adrenalin." Folin (21) hat auch die Aufmerksamkeit auf die Tatsache gelenkt, daß aller Wahrscheinlichkeit nach ein besonderer „Gewebe"umsatz stattfindet, und daß die Produkte, welche dazu dienen, das Stickstoffgleichgewicht in den lebenden Geweben zu erhalten, ganz besondere sind.

Die Tatsache, daß die Kreatinausscheidung im vorliegenden Falle fast bis auf Null sank, als die Diät — obgleich nur die Stärke- und Sahnendiät — wieder aufgenommen wurde, eine Diät, die vielleicht die „wesentliche" Substanz in unzureichender Menge enthalten haben mag, verleiht der obigen Ansicht einen Schimmer von Wahrscheinlichkeit.

Reststickstoff. Der Reststickstoff bildete während des Hungerns einen ziemlich hohen Prozentsatz des Gesamtstickstoffes,

aber doch war er im ganzen nicht höher als ungefähr in der Norm. Wie Brugsch (l. c.) gezeigt hat, bilden die Aminosäuren keinen sehr großen Teil dieser Stickstoffform. Die Höchstausscheidung des Reststickstoffes während des ganzen Versuches fand am 2. Tage der Stärke- und Sahnendiät nach Beendigung der Hungerperiode statt.

Anorganische Bestandteile.

Chlor. Die Chlorausscheidung war während der vorliegenden Hungerperiode absolut charakteristisch. Sogar schon der erste Hungertag zeigte eine ausgesprochene Differenz der ausgeschiedenen Chlormenge, indem sie von 6,7 g auf 3,2 g fiel. Dieses Fallen nahm ständig bis zum letzten Hungertage zu, an welchem Tage die ausgeschiedene Menge 0,24 g betrug. Die Mindestausscheidung war jedoch am 12. Tage, an dem bloß 0,18 g ausgeschieden wurden. Dieses Resultat kann natürlich bloß erzielt werden, wenn die einzige Quelle für Chlorversorgung das Trinkwasser ist. Dieses kann als Quelle — in Glasgow wenigstens — ganz außer acht gelassen werden, da in dem städtischen Leitungswasser nur Spuren von Chlor vorhanden sind. Bei Wiederaufnahme der Ernährung stieg die Chlorausscheidung im Harn sehr langsam bis zum 5. oder 6. Tage, wo die ausgeschiedene Menge fast normal war, trotz der Tatsache, daß die genommene Nahrung dieselbe Salzmenge (6 g) enthielt wie die, welche vor Beginn der Hungerperiode verabfolgt worden war. In anderen Worten: es hat eine ziemlich ausgesprochene Chlorzurückhaltung während der ersten vier Ernährungstage stattgefunden. Die zurückgehaltene Menge schwankte zwischen 10 und 11 g Chlor.

In der folgenden Tabelle (Tabelle XIII) habe ich die Menge des als NaCl ausgeschiedenen Cl angegeben, jedenfalls von den Tagen, an denen Na-Analysen gemacht wurden. Man wird bemerken, daß in jedem Falle die Menge des ausgeschiedenen Cl mehr Na zur Absättigung erfordert, als im Harne vorhanden ist, und daher wird Cl auch in anderen Formen als in Form von NaCl ausgeschieden.

Munk (l. c.) fand bei Breithaupt an normalen Tagen, daß etwa 90% des ausgeschiedenen Cl in Form von NaCl eliminiert wurden. Wenn man im vorliegenden Falle den Durchschnitt der beiden vor dem Hungern gemachten Analysen nimmt, so scheinen

allein weniger als 80% des Cl als NaCl ausgeschieden worden zu sein, wenn aber die beiden Analysen vom 6. und 7. Tage nach dem Hungern hinzugefügt werden, so scheint es, als würden über 80% in dieser Form ausgeschieden. Während des Hungerns scheint die als NaCl ausgeschiedene Menge außerordentlich veränderlich zu sein, ist aber im allgemeinen niedrig (etwa 66%). Munk fand bei Breithaupt während des Hungerns, daß nur 74% Cl in Form von NaCl vorhanden waren.

Tabelle XIII.

Nahrung	Tag d. Exp.	Cl im Harn in g	Zum Cl erf. Na in g	Im Harn ausgesch. Na in g	Harn-Na in % der notwand. Menge
Eier- u. Milch-Diät	3.	7,8	5,05	4,019	79,5
	6.	6,7	4,34	3,23	74,4
Hunger	III.	1,5	0,971	0,865	88,9
	VI. u. VII.	1,84	1,19	0,30	25,2
	X. u. XI.	0,69	0,447	0,40	89,4
	XIII. u. XIV.	0,48	0,311	0,192	61,7
Eier- und Milch-Diät	6.	6,2	4,01	3,34	83,2
	7.	8,6	5,57*	5,12	91,9

Phosphorsaure Salze. Ebenso wie die Chlorausscheidung fiel die Ausscheidung von P_2O_5 plötzlich am ersten Hungertage. Die Menge des am letzten Ernährungstage ausgeschiedenen P_2O_5 betrug 4,14 g und am ersten Hungertage nur 2,26 g. Das so begonnene Fallen setzte sich langsam aber beständig bis zum Ende der Hungerperiode fort, und die am letzten Hungertage ausgeschiedene Menge betrug 1,25 g. Der Einfluß der Nahrung auf die P_2O_5-Ausscheidung war sehr bemerkenswert; die am ersten Ernährungstage ausgeschiedene Menge — 0,45 g — stieg nur bis zu ein Drittel der am letzten Hungertage ausgeschiedenen Menge. Am folgenden Tage wurde noch weniger P_2O_5 ausgeschieden — 0,20 g —, also etwa bloß die Hälfte der am vergangenen Tage ausgeschiedenen Menge. Hierauf stieg die ausgeschiedene Menge ständig, und war am 6. oder 7. Tage tatsächlich normal (siehe Tabelle XIV). Diese selbe Retention von Phosphorverbindungen wurde auch im Falle La Tosca (untersucht von Van Hoogenhuyze und Verploegh) bemerkt. Über den Ur-

Tabelle XIV.

Tag des Exper.	Cl Chloride in g	P_2O_5 Phosphate in g	Ges.-Schwefel S in g	Anorgan. Sulfate S in g	Äther. Sulfate S in g	Neutraler Schwefel S in g	In % des Ges.-Schwefels			Harnacidität Säure in ccm $n/_{10}$ NaOH	Aceton	Acetessigsäure	Bemerkungen
							Anorg.	Äther.	Neutraler.				
4	7,3	3,60	1,39	1,17	0,077	0,14	84,1	5,5	**10,0**	579,0	0	0	Eier- u. Milch-Diät
5	5,4	3,73	1,41	1,13	0,093	0,18	80,6	6,6	12,7	588,0	0	0	
6	6,7	4,14	1,33	1,07	0,112	0,15	80,4	8,3	11,2	582,0	0	0	
I	3,2	2,26	0,614	0,440	0,046	9,127	71,6	7,6	20,7	378,0	?	0	Hunger
II	2,0	2,93	0,934	0,753	0,056	0,124	80,6	6,0	13,3	640,0	+	?	
III	1,5	2,98	0,801	0,647	0,038	0,115	80,8	4,7	14,4	687,0	+	+	
IV	1,3	2,91	0,856	0,692	0,040	0,122	80,8	4,6	14,2	604,0	+	+	
VI	1,0	2,37	0,712	0,552	0,040	0,119	77,5	5,6	16,7	454,0	+	+	
VII	0,84	1,84	0,644	0,497	0,034	0,112	77,2	5,2	17,3	358,0	+	+	
VIII	0,59	1,89	0,615	0,488	0,034	0,090	79,3	5,5	14,6	344,0	+	+	
X	0,39	1,60	0,556	0,429	0,030	0,097	77,1	5,4	17,4	280,0	+	+	
XI	0,30	1,54	5,570	0,420	0,032	0,117	73,6	5,6	20,5	256,0	+	+	
XII	0,18	1,55	0,577	0,440	0,025	0,112	76,2	4,3	19,4	212,0	+	+	
XIV	0'24	1,25	0,536	0,394	0,029	0,112	73,5	5,4	20,9	228,0	+	+	
1	0,53	0,45	0,476	0,309	0,045	0,121	64,9	9,4	25,4	108,0	??	0	Stärke- und Sahnen-Diät
2	0,66	0,20	0,275	0,142	0,036	0,096	51,9	13,1	34,9	88,0	0	0	
3	0,97	0,34	0,285	0,150	0,038	0,096	52,6	13,3	33,6	104,0	0	0	
4	1,1	0,89	0,934	0,729	0,048	0,156	78,0	5,1	16,7	156,0	0	0	Eier- u. Milch-Diät
5	4,6	2,10	0,933	0,735	0,036	0,161	78,8	3,8	17,2	263,0	0	0	

sprung des während des Hungerns ausgeschiedenen P_2O_5 hat Munk (l. c.) in seiner Arbeit über Cetti und Breithaupt ziemlich ausführlich berichtet. Im vorliegenden Falle stammt, wie natürlich zu erwarten war, bei weitem die größte Menge P_2O_5 aus dem Zerfall von Muskeln und anderen Weichteilen. Wie vorher gezeigt, ist das Verhältnis von P_2O_5 zu Stickstoff in solchem Gewebe etwa = 6,6 : 1, daher würde man während des Hungerns, wenn diese Gewebe die einzige Quelle des ganzen ausgeschiedenen P_2O_5 wären, ein ähnliches Verhältnis von P_2O_5 zur Stickstoffausscheidung erwarten. Im Falle Cetti war das Verhältnis von P_2O_5 : Stickstoff 4,4 : 1, im vorliegenden Falle ist es 5,2 : 1 während der ganzen Hungerzeit. In der später folgenden Tabelle (Tabelle XV) ist das Verhältnis von Tag zu Tag angegeben, und man wird bemerken, wie relativ regelmäßig das Verhältnis die 14 Tage hindurch bleibt.

Tabelle XV.

Verhältnis von P_2O_5 zu Stickstoff.

Tag des Experiments	N-Auscheid. in g	P_2O_5-Aussch. in g	Verhältnis N : P_2O_5	Bemerkungen
5	15,64	3,73	4,19 : 1	Nahrung
6.	16,45	4,14	3,97	
I.	10,51	2,26	4,65	Hunger
II.	14,38	2,93	4,90	
III.	13,72	2,98	4,60	
IV.	13,72	2,91	4,71	
VI.	10,77	2,37	4,54	
VII.	9,67	1,84	5,25	
VIII.	9,52	1,89	5,03	
X.	8,38	1,60	5,23	
XI.	8,49	1,54	5,51	
XII.	8,77	1,55	5,65	
XIV.	7,78	1,25	6,22	

Während des Hungers fand eine Ausscheidung von 27,92 g P_2O_5 durch den Harn statt und zu gleicher Zeit wurden 145,37 g Stickstoff ausgeschieden. Diese Menge Stickstoff entspricht etwa 4542,7 g Muskelgewebe. Wenn wir annehmen, daß Muskel- und andere Weichteile (Leber usw.) einen Gehalt von 0,5% P_2O_5 haben, dann entsprechen diese 4542,7 g Gewebe etwa 22,71 g P_2O_5. Es verbleibt uns also ein Überschuß von 5,21 g ausgeschiedene

P_2O_5, die aus irgend einer anderen Quelle als aus den Stickstoff versorgenden Geweben stammt. Munk zeigte in einer Arbeit, daß die Versorgungsquelle nur die Knochengewebe sein können. Forster führte vor langer Zeit aus, daß nur eine sehr kleine Menge P_2O_5 während des Hungerns aus dem Blute entsteht. Auch andere Quellen, wie das Gehirn (Zuelzer), sind angegeben worden, aber dieses Gewebe — das Gehirn — verliert, wie von Voit bewiesen wurde, sehr wenig im Laufe einer ausgedehnten Hungerperiode, und es ist nicht wahrscheinlich, daß es in den 10 oder 14 Tagen leidet. Ferner war Herter (26) nicht imstande, die Tatsache zu bestätigen, daß ein Verlust von Lecithin während des Hungerns stattfindet.

Schwefel. Der Gesamtschwefel des Harns ist oft als Maß für den gesamten Eiweißumsatz angesehen worden, aber wegen der großen Veränderlichkeit im S-Gehalt der verschiedenen Eiweißsubstanzen war diese Annahme nie recht befriedigend. Im Falle des Hungerns müßte die Ausscheidungsgröße dann von Wert sein, vorausgesetzt, daß der S-Gehalt der verschiedenen Gewebe bekannt ist. Wie wiederholt festgestellt wurde, geht der meiste ausgeschiedene Stickstoff aus dem Muskelzerfall hervor und die Bestimmung des ausgeschiedenen S scheint dies zu bestätigen. Wenn man das Verhältnis von Stickstoff zu S im Muskelgewebe mit 14 : 1 annimmt, so stützen die im vorliegenden Hungerversuch erhaltenen Zahlen die obige Meinung, da das gefundene Verhältnis etwa 15 : 1 : S : Stickstoff ist (siehe die folgende Tabelle XVI).

Tabelle XVI.

Tag des Versuches	Gesamt-N in g	Gesamt-S in g	Verhältn. von S : N in g	Bemerkungen
6.	16,45	1,33	12,2 : 1	Nahrung
I.	10,51	0,614	17,1	Hunger
II.	14,38	0,934	15,3	
III.	13,72	0,801	17,1	
IV.	13,72	0,856	16,0	
VI.	10,77	0,712	15,1	
VII.	9,67	0,644	15,0	
VIII.	9,52	0,615	15,4	
X.	8,38	0,556	15,0	
XI.	8,49	0,570	14,9	
XII.	8,77	0,577	15,2	
XIV.	7,78	0,536	14,5	

Wie bei den vorher betrachteten anorganischen Bestandteilen, so ist auch beim Gesamtschwefel vom ersten bis zum letzten Hungertage ein ständiges Fallen zu bemerken. Der erste Hungertag zeigt ein Fallen bis etwa zur Hälfte der Ausscheidung des letzten Ernährungstages, aber am 2. Tage steigert sich die Ausscheidung gerade wie beim Gesamtstickstoff, und dann folgt wieder die schon erwähnte ständige Abnahme. Übereinstimmend mit der geringen Zunahme der Stickstoffausscheidung, ungefähr am 11. Tage, findet auch eine leichte Zunahme der Gesamtschwefelausscheidung statt. Diese Erhebung ist keiner der Schwefelformen eigentümlich. Am 11. Tage findet die Steigerung im neutralen Schwefel, am 12. jedoch in den anorganischen Sulfaten statt (siehe Tabelle XIV). Bei Wiederaufnahme der Nahrung findet ein sehr ausgesprochenes Fallen in der Menge des ausgeschiedenen Schwefels statt, hier jedoch hauptsächlich in der Menge der anorganischen Sulfate. Mit Beendigung der Stärke- und Sahnendiät und dem Beginn der Milch- und Eiernahrung — einer an S reichen Diät — stieg, wie zu erwarten war, die Menge des ausgeschiedenen S. Hier stieg wieder die absolute und die prozentische Menge anorganischer Sulfate plötzlich; zu gleicher Zeit stieg die absolute Menge des ausgeschiedenen neutralen Schwefels ein wenig, aber die prozentische Menge nahm ab.

Anorganische Sulfate. Diese Sulfate nehmen in ihrer ausgeschiedenen Menge während der Hungerperiode allmählich ab. Wie schon erwähnt, erreichen sie zur Zeit der Sahnen- und Stärkediät einen sehr niedrigen Stand. Im Prozentsatz zum Gesamtschwefel ist die Abnahme nicht so erheblich, wie man erwartet haben könnte. Die durchschnittliche prozentische Ausscheidung vor Beginn des Hungers betrug 82,3% und während des Hungerns schwankte sie zwischen 80,8 und 73,5%. Am 2. Tage der Stärke- und Sahnendiät betrugen die anorganischen Sulfate nur 51,9% des Gesamtschwefels.

Äthersulfate. Die tägliche Ausscheidung dieser Sulfate ist gering. Wie bei den verschiedenen anderen betrachteten Bestandteilen findet man auch hier während des Hungerns eine ständige Abnahme der ausgeschiedenen Menge. Die Höchstausscheidung fand am 2. Hungertage, die Mindestausscheidung am 12. statt. Mit Wiederaufnahme der Nahrung — sogar während der Stärke-

und Sahnendiät — hebt sich die Ausscheidung der Äthersulfate ganz entschieden. In dieser Richtung ist Folins Behauptung von Interesse, „daß die Äthersulfate eine Form des Schwefelumsatzes darstellen, die erheblicher wird, wenn die Nahrung wenig oder gar kein Eiweiß enthält." Während des Hungerns, wenn eine ziemlich große Menge stickstoffhaltiger Stoffe umgesetzt wird, ist die prozentische Ausscheidung der Äthersulfate sehr beständig, sie beträgt etwa 5,4% des Gesamtschwefels, während zur Zeit der stickstofffreien (?) Stärke- und Sahnendiät und zur Zeit, da die Stickstoffausscheidung im Harn deutlich fiel, die prozentische Ausscheidung stieg. Am letzten Tage der stickstofffreien (?) Diät betrug sie 13,3% und fiel bei Wiederaufnahme der stickstoffhaltigen Diät sofort auf 5,1%.

Neutralschwefel. Die Neutralschwefelausscheidung nimmt in ihrer wirklichen Menge ab, jedoch nicht sehr erheblich! Die Höchstausscheidung beträgt 0,127 g am 1. Hungertage, die Mindestausscheidung 0,090 g am 8. Tage, am letzten Hungertage beträgt sie 0,112 g. Bei Wiederaufnahme der Nahrung — der Stärke- und Sahnendiät — findet eine leichte Steigerung statt, und eine fernere Steigerung bei Beginn der eiweißhaltigen Diät. Prozentual zum Gesamtschwefel veränderte sich die Ausscheidung während des Hungerns um etwa 7%, kann aber als ziemlich regelmäßig — wenn auch nicht so regelmäßig wie die Äthersulfate — angesehen werden. Bei Beginn der Ernährung findet eine erhebliche Steigerung und bei Wiederaufnahme der Eier- und Milchdiät ein Sinken statt.

Die Bestimmung des Gesamtschwefels im Falle Succi durch E. und O. Freund bewies, daß die Ausscheidung, gerade wie im vorliegenden Falle, allmählich im Laufe des Hungerns fiel. Die anorganischen und Äthersulfate nahmen auch ständig ab; hier war die Abnahme ausgesprochener als bei Beauté. Die Ausscheidung des Neutralschwefels war an den drei ersten Tagen gleich, am 4. Tage verdoppelte sich die Menge, blieb einige Tage auf dieser Höhe und fiel dann, bis sie allmählich einen niedrigeren Stand als zu Anfang erreichte. Prozentual zum Gesamtschwefel stieg der Neutralschwefel ständig von 10% am ersten Tage bis zu 48% am 20. Tage. Die Äthersulfate zeigen im Prozentsatz zum Gesamtschwefel in diesem Falle keine sehr große Regelmäßigkeit.

Acidität. Die Harnacidität zeigt am 1. Hungertage ein ausgesprochenes Fallen von 582 ccm $^n/_{10}$ bis 378 ccm $^n/_{10}$; am 2. Tage steigt sie bis 640 ccm $^n/_{10}$ und am 3. Tage sogar noch höher bis 687 ccm $^n/_{10}$. Dies war die Maximalacidität, es folgte ein ständiges Fallen bis zur Beendigung der Hungerperiode. Dieses Heben und Sinken wurde auch bei den Hungerleistungen von Cetti und von La Tosca beobachtet. Es ist klar, daß in den ersten Hungertagen der Zerfall der Fettgewebe zu rapid ist, als daß der Körper ihn bewältigen könnte; daher wird ein Teil der Fettsäuren ausgeschieden. Später, wenn das Fett nicht mehr so reichlich ist, ist der Zerfall natürlich nicht mehr so heftig, und so ist der Körper imstande, die Hauptmenge der hervorgebrachten Säuren vollständig zu verbrennen. Leider war es, infolge von Mangel an Material, unmöglich, eingehender in die Natur der Säure einzudringen. Bei Wiederaufnahme der Nahrung — der Stärke- und Sahnendiät — ist das Fallen im Grade der Harnacidität ganz außergewöhnlich, sie beträgt nur 88 ccm $^n/_{10}$ am 2. Nahrungstage. Man bemerke, daß dieses Fallen ziemlich dicht der großen Retention der P_2O_5 folgt. Mit Wiederaufnahme der eiweißhaltigen Diät nahm der Grad der Harnacidität schnell zu.

Kalium. Natrium. Der Harn ist in bezug auf seinen Gehalt an diesen beiden Substanzen vor dem Hungern ganz normal. Er enthält etwas mehr Natrium als Kalium. Am 3. Hungertage ist das Verhältnis — gerade wie vorher beobachtet wurde — gänzlich verändert; die Kaliumausscheidung überwiegt die Natriumausscheidung. Dies ist natürlich eine Folge der Tatsache, daß die während des Hungerns sehr schnell zerfallenden Körpergewebe reicher an Kalium als an Natrium sind. Diese am 3. Tage beobachtete Veränderung schreitet ständig bis zum Ende des Hungerns fort, während beide Substanzen zu gleicher Zeit in der tatsächlich ausgeschiedenen Menge abnehmen (siehe Tabelle XVII und XVIII). Bei Wiederaufnahme der Nahrung wird die Natriumausscheidung bald größer als die Kaliumausscheidung. Am 7. Tage nach dem Hungern betrug die Natriumausscheidung 5,12 g, trotzdem eine Aufnahme von nur 6 g Chlor-Natrium stattgefunden hatte. Die Erklärung dieser hohen Ausscheidung mag in der Tatsache liegen, daß nach dem Hungern eine sehr ausgesprochene Zurückhaltung von Chlor vorhanden gewesen war, dessen Natrium

teilweise bis zur obigen Zeit der Beobachtung nicht ausgeschieden wurde.

Tabelle XVII.

Tag der Beobacht.	Ca in g	Mg in g	K in g	Na in g	Bemerkungen
3.	0,326	0,117	3,168	4,019	Eier- und Milch-Diät
6.	0,218	0,107	3,15	3,23	
III.	0,216	0,131	1,33	0,865	
VI. VII.[1]	0,368 (0,184)	0,150 (0,075)	2,098 (1,049)	0,30 (0,15)	Hunger
X. XI.[1]	0,306 (0,153)	0,098 (0,049)	1,344 (0,672)	0,40 (0,20)	
XIII. XIV.[1]	0,192 (0,096)	0,074 (0,037)	1,030 (0,515)	0,192 (0,096)	
6.	0,178	0,042	2,33	3,34	Eier- und Milch-Diät
7.	0,159	0,046	3,20	5,12	

Die in Klammern stehenden Ziffern geben die an einem Tage ausgeschiedene Menge an.

[1]) Wegen der geringen Harnmengen mußten die Mengen von 2 Tagen zur Untersuchung genommen werden.

Tabelle XVIII.

Tag der Untersuchung	Verhältnis zwischen Ca : Mg	K : Na	Bemerkungen
3.	2,7 : 1	1 : 1,2	Eier- u. Milch-Diät
6.	2,0 : 1	1 : 1,02	
III.	1,6 : 1	1,5 : 1	
VI. VII.	2,4 : 1	6,9 : 1	Hunger
X. XI.	3,1 : 1	3,4 : 1	
XIII. XIV.	2,6 : 1	5,3 : 1	
6.	4,2 : 1	1 : 1,4	Eier- u. Milch-Diät
7.	3,4 : 1	1 : 1,6	

Calcium. Magnesium. Beide Körper fallen während des Hungers ständig in ihrer ausgeschiedenen Menge. Sie nehmen jedoch nicht mit gleicher Geschwindigkeit ab, das Magnesium fällt, wie Tabelle XVIII zeigt, etwas schneller als das Calcium. Vor dem Hungern, während der Eier- und Milchdiät, ist das Ver-

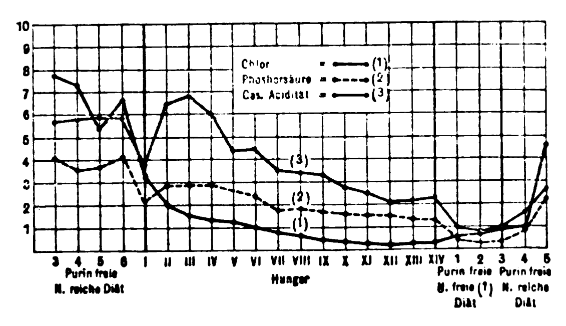
hältnis etwa 2,3 : 1, hingegen am 10. und 11. Hungertage 3,1 : 1. Später, während der Eier- und Milchdiät, ist der Durchschnitt am 6. und 7. Tage nach dem Hungern 3,8 : 1. Wie Munk schon bewiesen hat, stammt das meiste Ca und Mg nicht aus den weichen Geweben, sondern aus den Knochen.

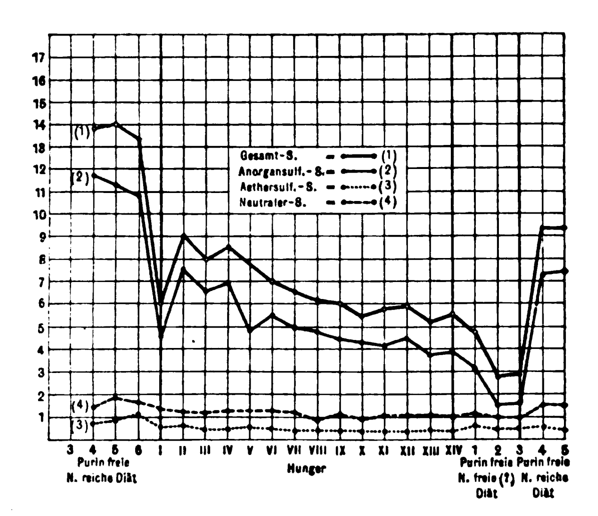
Ich verdanke meinem Freunde, Dr. C. E. Fawsitt, die Ausführung der Analysen von K, Na, Ca und Mg.

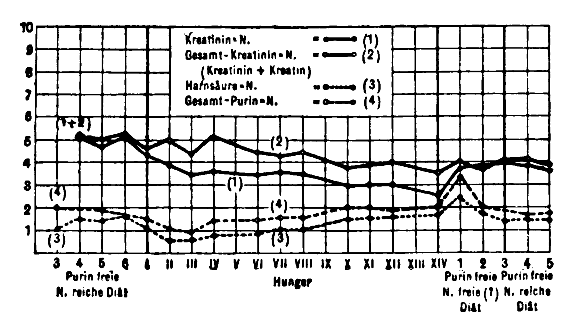
Aceton. Acetessigsäure. Wegen der geringen Harnausscheidung war es unmöglich, quantitative Bestimmungen sowohl von Aceton als von Acetessigsäure auszuführen. Qualitativ wurde Aceton, wie man aus Tabelle XIV ersehen wird, durch die Nitroprussidnatriumprobe am 2. Hungertage nachgewiesen und Acetessigsäure durch Eisenreaktion am 3. Hungertage. Beide Substanzen verschwinden mit großer Plötzlichkeit bei Wiederaufnahme der Nahrung. Es mag eine Spur von Aceton am 1. Tage der Ernährung vorhanden gewesen sein, aber ganz gewiß konnte keine Acetessigsäure gefunden werden.

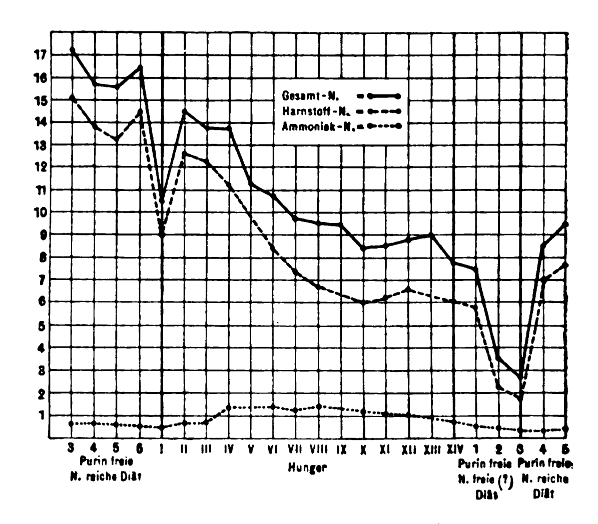
Leider konnte keine Untersuchung der Faeces vorgenommen werden. Kein Stuhlgang fand vom 6. Tage des Experiments, dem dem Beginn des Hungerns vorangehenden Tage ab, bis zum 24. Tage, d. h. dem 4. Tage nach Beendigung des Hungerns — bei Wiederaufnahme der Eier- und Milchdiät — statt. Dieser Stuhlgang war sehr leicht und ungeformt, aber nicht flüssig. Eingelagert in ihn waren die kleinen harten Kotmassen, die für den Hunger charakteristisch sind. Es konnte keine quantitative Untersuchung dieser Massen gemacht werden, da sie ohne erheblichen Verlust von den weichen Exkrementen, in denen sie lagerten, nicht befreit werden konnten.

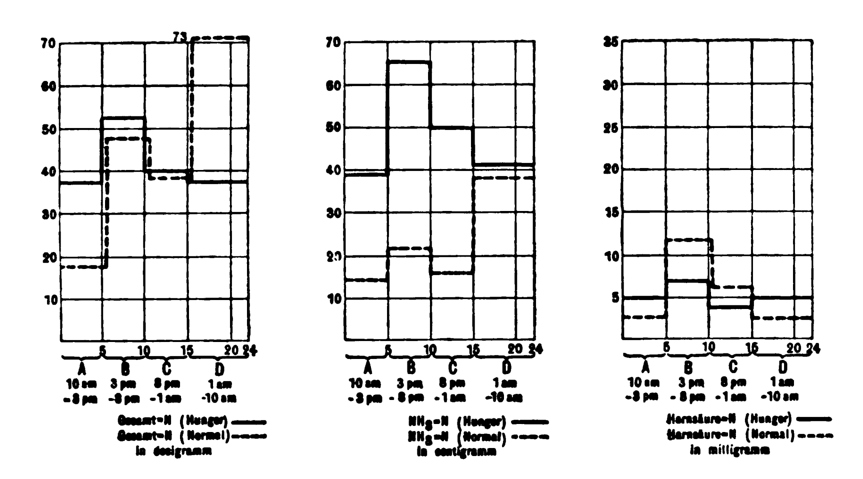
Graphische Übersichtstabellen.




Gesamt-S. (1)
Anorgansulf.-S. (2)
Aethersulf.-S. (3)
Neutraler-S. (4)
Purin freie N. reiche Diät
Hunger
Purin freie N. freie (?) Diät
Purin freie N. reiche Diät


Kreatinin-N. (1)
Gesamt-Kreatinin-N. (2)
(Kreatinin + Kreatin)
Harnsäure-N. (3)
Gesamt-Purin-N. (4)
Purin freie N. reiche Diät
Hunger
Purin freie N. freie (?) Diät
Purin freie N. reiche Diät


Gesamt-N.
Harnstoff-N.
Ammoniak-N.
Purin freie N. reiche Diät
Hunger
Purin freie N. freie (?) Diät
Purin freie N. reiche Diät



Anhang I.

Ein Versuch, einen Einblick in die tägliche Veränderung, besonders der Ausscheidung der verschiedenen Stickstoffsubstanzen während des Hungerns zu erlangen, wurde am 5., 9. und 13. Hungertage gemacht. Eine Kontrolluntersuchung wurde am 6. Tage nach dem Hungern ausgeführt, als die Bedingungen mutmaßlich wieder normal waren.

Die Versuchsbedingungen waren folgende: Die 24 Stunden wurden in vier Perioden eingeteilt: A. 10 Uhr vorm. bis 3 Uhr nachm.; B. 3 Uhr nachm. bis 8 Uhr nachm.; C. 8 Uhr nachm. bis 1 Uhr nachts; D. 1 Uhr nachts bis 10 Uhr vorm.; d. h. in drei Perioden à 5 Stunden und eine von 9 Stunden (die Nachtstunden). An den betreffenden Tagen trank Beauté 1200 ccm Wasser, statt wie gewöhnlich 1000 ccm, und zwar in jeder Periode 300 ccm. Das Wasser mußte ganz in den ersten 4 Stunden ausgetrunken werden, so daß in der letzten Stunde vor der Sammlung des Harns keine Flüssigkeit mehr getrunken wurde. Eine ähnliche Einteilung wurde am 6. Tage nach dem Hungern, als Nahrung genossen wurde, vorgenommen. Die Resultate der Experimente zeigt nachfolgende Tabelle. Die Hungerziffern sind im Durchschnitt der 3 Tage als stündliche Ausscheidung angegeben (siehe auch die Tabelle).

Tabelle XIX.

Stündliche Ausscheidung verschiedener stickstoffhaltiger Körper.

Zeit	Gesamt-N		$N \cdot H_3$ N		Harnsäure-N	
	Hunger	Normal	Hunger	Normal	Hunger	Normal
A) 10 Uhr vorm. bis 3 Uhr nachm.	0,37	0,176	0,039	0,0142	0,005	0,0023
B) 3 Uhr nachm. bis 8 Uhr nachm.	0,53	0,48	0,065	0,0214	0,007	0,0119
C) 8 Uhr nachm. bis 1 Uhr nachts	0,40	0,38	0,050	0,0156	0,004	0,0064
D) 1 Uhr nachts bis 10 Uhr vorm.	0,37	0,73	0,041	0,0381	0,005	0,0023

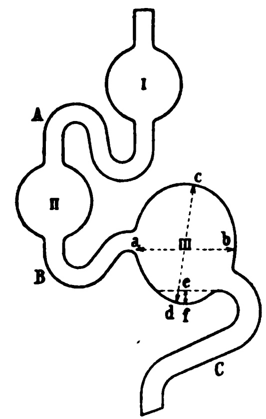
Leathes (27) hat bewiesen, daß die tägliche Veränderung in der Ausscheidung der verschiedenen stickstoffhaltigen Körper sehr gut gekennzeichnet ist und für jede besondere Substanz praktisch konstant ist. Er fand, daß die Maximalausscheidung an Gesamtstickstoff während der Schlafstunden stattfand und die Minimalausscheidung während der frühen Morgenstunden, wohingegen die Maximalausscheidung an Harnsäure am Tage bis etwa um 4 Uhr nachmittags stattfindet und die Minimalausscheidung während der Nacht. Im vorliegenden Falle stimmt die Beobachtung für die Norm, d. h. die am 6. Tage nach dem Hungern, mit Leathes' Angabe überein; aber wenn man die Ziffern des Hungerharns betrachtet, so sieht man, daß die Maximalausscheidung an Gesamtstickstoff während der Stunden des Wachens erfolgt. Die Ammoniakausscheidung folgt der Kurve des Gesamtstickstoffes ziemlich genau für die Zeit der Hunger- und Normalperioden. Die Beobachtungen über die Harnsäureausscheidung sind beide sehr ähnlich, und ferner stimmen beide mit den Beobachtungen von Leathes überein.

Fast die gesamten Mittel, die zu dieser Untersuchung aufgewendet wurden, sind aus einer Stiftung der Carnegie Trustees bestritten, wofür ich ergebensten Dank sage.

Anhang II.

Die bei der voraufgehenden Untersuchung angewandte Methode der Harnstoffbestimmung war die von Folin (28). Dieses Verfahren gibt bei einiger Übung sehr gute und untereinander

übereinstimmende Ergebnisse, sowohl für sich als in Verbindung mit der Mörner-Sjöquistschen Methode (29). Leider verlangt die Handhabung des von Folin empfohlenen Kondensationsgefäßes viel Aufmerksamkeit. Um das zu umgehen, wurde ein anders geformtes und automatisch arbeitendes Kondensationsgefäß konstruiert, so daß die in Gang gesetzte Bestimmung sich ruhig selbst überlassen werden kann. Bei Benutzung dieses Gefäßes (siehe die nebenstehende Figur) ist es gut, eine ganz geringe Menge verdünnter Salzsäure vor Beginn der Bestimmung in der unteren Kugel (III) zu haben, um den Apparat zu überwachen, bis der Rückfluß glatt vonstatten geht.



Gesamthöhe des Apparates . . 20,0 ccm
Durchmesser d. Kugel I u. II . . 4,0 „
„ „ „ III a⟷b 5,5 „
„ „ „ III c⟷d 6,5 „
„ „ „ III c⟷f ca. 0,75 „
„ d. Glasröhren A u. B 1,0 „
„ der Glasröhre C . 1,25 „

Literatur.

1) Luciani, Das Hungern. 1890.
2) Lo Monaco, Bollet. della Soc. lancis. d. ospitali di Roma **14**, 102, 1894 (zit. Malys Jahrb. 1896).
3) Daiber, Schweiz. Wochenbl. f. Pharm. **34**, 395, 1896 (zit. Malys Jahrb. 1896).
4) E. und O. Freund, Wiener klin. Rundschau, **1901**, Nr. 5 u. 6.
5) Brugsch, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **1**, 1906.
6) Lehmann, Müller, Munk, Senator und Zuntz, Virchows Archiv **132**, Suppl.-Bd. **131**, 1, 1893.
7) Hooven und Sollmann, Journ. of experim. Medicine **2**, 405, 1897.
8) Van Hoogenhuyze und Verploegh, Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**, 415, 1905.
9) Bönniger und Mohr, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **1906** (zit. Biochem. Centralbl. V).
10) Benedict und Diefendorf, Amer. Journ. of Physiol. **18**, 362, 1905.
11) Folin, Amer. Journ. of Physiol. **13**, 46, 1905.
12) Folin, Amer. Journ. of Physiol. **13**, 66, 1905.
13) Prausnitz, Zeitschr. f. Biol. **29**, 151, 1892.
14) Burian und Schur, Arch. f. d. ges. Physiol. **80**, 241, 1900.
15) Ranke, Arch. f. Anat. u. Physiol 301, 1862.

16) Nemser, Arch. scien. biol. **7**, 221, 1899 (zit. Malys Jahrb. 1899).
17) Hirschfeld, Virchows Archiv **114**, 301, 1888.
18) Voit, Zeitschr. f. Biol. **2**, 354, 1866.
19) Tominaga, Centralbl. f. Physiol. 381, 1893.
20) Mares, Arch. slav. de Biol. **3**, 207, 1888 (zit. Wiener Ergeb. Physiol. Bioch. **1**, 1902).
21) Folin, Hammarstens Festschrift 1906.
22) Benedict und Myers, Amer. Journ. of Physiol. **18**, 362 et seq. 1907.
23) Lüthje, Arch. f. d. ges. Physiol. **113**, 547, 1906.
24) Bayliss und Starling, Ergebn. d. Physiol., V. Jahrg., 1906.
25) Hopkins, Journ. of Physiol. **35**, 88, 1906.
26) Herter, Journ. of experim. Medicine **3**, 293, 1898.
27) Leathes, Journ. of Physiol. **35**, 145, 1906.
28) Folin, Zeitschr. f. physiol. Chem. **32**, 504, 1901; **36**, 333, 1902.
29) Cathcart, Journ. of Physiol. **35**, 1906.

Chemische Veränderungen des Blutserums bei Infektionen mit Pyogenes communis.

Von

Dr. Giuseppe Bolognesi,
Assistenten am Institut.

(Aus dem Institut für Pathologische Anatomie der Kgl. Universität Bologna [Direktor: Prof. G. Martinotti].)

(Eingegangen am 23. Juli 1907.)

Die Wirkung der pathogenen Bakterien kann abhängen: sowohl vom Körper der Bakterien selbst als von darin enthaltenen chemischen Substanzen, ferner von besonderen, bei Wachstum erzeugten Verbindungen und endlich von Veränderungen im Substrate der Kultur. Bezüglich dieser letzteren weiß man, daß gewisse Symptome einiger Infektionskrankheiten experimentell durch Einimpfung von Filtraten von Bakterienkulturen herbeigeführt werden können. Aber welches sind diese chemischen Veränderungen, die von den Mikroorganismen hervorgebracht werden?

Im Blute können die pathogenen Keime in gewissen Fällen gute Bedingungen für ihre Entwicklung finden. Es ist natürlich, daß das Blut, um den Keimen als Nährboden zu dienen, von diesen chemisch verändert werden muß, und da die normale chemische Zusammensetzung des Blutes uns in den Hauptzügen bekannt ist, so können wir zu ergründen versuchen, welcher Art die in ihm durch die pathogenen Mikroorganismen hervorgebrachten Veränderungen sind.

Da sie durch eine Zersetzung der Bestandteile des Blutes zustande kommen, könnte zuweilen eine Synthese aus neuen Verbindungen stattfinden. Die Tatsache der Zersetzung selbst hat notwendigerweise einen schädlichen Einfluß auf den Organismus; wenn dann ein Synthese neuer Verbindungen erfolgt, so könnten

solche überdies trotz ihrer geringen Menge befähigt sein, eine besondere giftige Wirkung zu entfalten, wie dies auch bei gewissen Alkaloiden der Fall ist.

Im allgemeinen könnten die Veränderungen in einer Verschiebung des normalen Verhältnisses zwischen Albumin und Globulin bestehen, oder man kann auch annehmen, daß das Albumin in Eiweißkörper von einfacherer Molekulargröße gespalten wird. Oder diese Spaltung könnte auch bloß das Globulin betreffen; in jedem Falle hätte man eine Änderung in der chemischen Zusammensetzung des Blutes und demnach notwendigerweise eine Störung in den wichtigen Funktionen der Blutflüssigkeit.

Die so beschriebene Fragestellung erscheint ziemlich einfach, aber der Beweis erfordert eine nicht geringe Anzahl von Untersuchungen und die Anwendung von Methoden, die weder einfach noch leicht sind.

Gewöhnlich geht man bei dem Studium der Giftwirkungen von Mikroorganismen von der chemischen Untersuchung der künstlichen Kulturflüssigkeiten aus, die sich immer sehr stark von dem natürlichen Substrat des lebenden Organismus, in dem der Keim seine schädlichen Wirkungen ausübt, unterscheiden. Daher erschien mir ein Studium jener Veränderungen wichtig, die man im Blutserum beobachtet, wenn es in vitro mit einigen der gewöhnlichsten pathogenen Bakterien, Staphylokokken und Streptococcus pyogenes, geimpft wird; und um den Vorgängen im Leben näher zu kommen, habe ich auch Experimente ausgeführt, um die chemischen Veränderungen im Blutserum eines infizierten Tieres zu prüfen.

Im Hinblick auf die Angaben über Vorkommen von Toxalbumose in dem von Mikroorganismen infizierten Blute habe ich schließlich folgende Methode ausfindig gemacht, diese im Serum nachzuweisen, das mit einigen der gewöhnlichsten pathogenen Keime (Streptokokken und Staphylokokken) infiziert war. Ich habe Rinder-Serum[1]) (von dem man annimmt, daß es Albumosen enthält) mit 2 Volumen destillierten Wassers verdünnt und habe

[1]) Die Sterilisation des Serums wurde so ausgeführt, daß ich es mehrere Tage 2—3 Stunden lang einer Temperatur von 55° aussetzte.

das Ganze nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure zum Sieden erhitzt. Die Flüssigkeit, in der man Albumosen vermutet, wurde filtriert, um sie vom Niederschlag (Albumin und Globulin, bzw. Heteroalbumose) zu trennen. Dann habe ich absoluten Alkohol (9 Volumen) zugesetzt; die Bildung eines Präcipitats würde die Gegenwart anderer Albumosen anzeigen, die alle unter diesen Bedingungen ausfallen.

Indessen war das Resultat einer solchen Prüfung auf Albumosen im infizierten Blut immer negativ, während das Vorhandensein von Albumose sich kundgab, wenn man nach derselben Methode eine durch künstliche Verdauung von Normalserum desselben Tieres (Rind) gewonnene Flüssigkeit behandelte.

Aus den Forschungen nach der Ursache hierfür wurde eine physikalisch-chemische Veränderung der Kulturflüssigkeit wahrscheinlich — da dasselbe Filtrat die gleichen pathologischen Wirkungen wie die Kultur in toto hervorbringt; da es ferner nicht gelungen ist, in den Kulturen die Gegenwart neuer Bestandteile nachzuweisen, kam ich darauf, zu untersuchen, ob vielleicht die Veränderung in einer Ab- oder Zunahme der Quantität der beiden Hauptkomponenten des Blutserums bestände.

Man konnte in der Tat annehmen, daß die Gesamteiweißsubstanz unverändert bliebe (was ich bei Gelegenheit der Albumoseuntersuchung festgestellt habe), dagegen durch die Mikroorganismen ein Teil des Albumins zu Globulin werde oder umgekehrt. Wenn ich von umgesetztem Albumin oder Globulin spreche, so meine ich damit nicht Albumin oder Globulin, das mit dem vorher im Serum normalerweise vorhandenen identisch ist, sondern einen Körper, der chemisch in diese Kategorie gehört.

Wie bekannt, faßt man die normalen Globuline unter den beiden Benennungen Serumglobulin und Fibrinogen zusammen: dieses letztere habe ich ausschließen müssen; denn es wäre sehr schwierig gewesen, auf ihm pathogene Bakterien zu züchten und dann die chemischen Veränderungen zu untersuchen. Zuerst bedurfte ich also einer Methode, um die beiden Kategorien von Eiweißkörpern, Albumin und Globulin, voneinander zu trennen; aber mit keinem der bekannten Verfahren kann man dies auf vollkommene Weise erreichen. Übrigens brauchte ich eine absolute

Genauigkeit der Resultate nicht, es genügte mir ein einfaches Anzeichen für die Zu- oder Abnahme, damit sich Veränderungen sicher feststellen ließen, wie es auch in allen Serien der Untersuchungen der Fall war.

Die klassische Methode der Globulinfällung, die Ausfällung mittels Kohlensäureanhyrid, die ich am Anfang dieser Untersuchung angewendet habe, weist, ganz abgesehen von ihrer langen Dauer, noch den Übelstand auf, daß der normale Alkaligehalt der gewöhnlichen Glasgefäße genügen kann, um den Niederschlag, der sich durch die Wirkung der äußerst schwachen Säure gebildet hat, wieder aufzulösen. Dafür erreicht man mit einer anderen gleichfalls schwachen organischen Säure glänzend diesen Zweck: es ist dies die Salicylsäure in wässeriger Lösung.

Mittels vorbereitender Untersuchungen habe ich in einer Reihe von Versuchen festgestellt, welches die notwendige Menge ist; das Resultat war: auf 10 ccm Serum 50 ccm Salicylsäure von 1 : 2000. Diese Dosis brachte tatsächlich in demselben Serum die gleiche Menge Niederschlag hervor.

Nach dieser Feststellung fuhr ich mit den eigentlichen Untersuchungen, dem Hauptzweck meiner Arbeit, fort und versuchte (am 14. Januar 1907), ob mit diesem Verfahren Änderungen im Verhalten des normalen Serums von Rindern und Pferden im Vergleich zu solchem nachweisbar sind, das vorher mit Streptococcus pyogenes behandelt war. Zuerst erfolgte eine überraschende Abnahme der Globulinquantität, oder, um über die Natur der chemischen Substanz nichts zu präjudizieren, des erhaltenen Niederschlags.

Dieses Ergebnis wurde nicht gelegentlich, sondern gleichmäßig in einer Gruppe von 5 Reihen infizierter Gläser und von 2 normalen erhalten.

Dieses Resultat bildete die Basis für eine sehr verwickelte Betrachtung, da es sich nicht um eine Molekülverkleinerung oder Spaltung von chemischen Substanzen infolge Einwirkung der Mikroorganismen handelte, sondern im Gegenteil um den Aufbau von Körpern mit größeren und komplizierteren Molekülen auf Kosten der Körper von einfacheren Molekülen. Das verschwundene Globulin mußte die Quelle des Albumins gewesen sein, da die Gesamtmenge der Eiweißsubstanzen, wie bemerkt, sich nicht ver-

ändert hatte. Ein solches Resultat stand aber im Widerspruch zu den Behauptungen der Forscher, die von Toxalbumosen sprechen, denn anstatt einen Spaltungsprozeß zu erzielen, beobachtet man eine Synthese. Die außerordentliche Wichtigkeit dieses ersten Ergebnisses bestimmte mich zu weiteren Beobachtungen, und dabei konnte ich leicht feststellen, daß man nicht immer denselben Befund erhebt.

Ich suchte nach der Ursache solcher Abweichungen, beobachtete die gewissenhafteste Vorsicht beim Anstellen der einzelnen Serumsproben und bemerkte dabei, daß sie von der Verschiedenheit des Serums selbst in den einzelnen Schichten des Gefäßes, das zur Sammlung des Blutes und zu seiner Defibrination diente, herrührte und auch in noch höherem Maße von der Einwirkung der Temperatur, die zur Sterilisation des Kulturbodens und zur Entwicklung der pathogenen Mikroorganismen angewendet wurde. Mit anderen Worten: man mußte das Serum vor der Verteilung auf die einzelnen Versuchsröhrchen mit gewissenhafter Genauigkeit mischen und jede Reihe gut gemischten Serums mit dem normalen Serum vergleichen, auf welches dieselbe Zeit lang die gleiche Temperatur eingewirkt hatte.[1])

Als ich die Experimente mit all diesen Vorsichtsmaßregeln noch einmal machte, fielen die Resultate anders als die der ersten 7 Serien vom 14. Januar 1907 aus. Und jetzt bemerkte ich, als ich die Versuche wiederholt und in verschiedener Weise anstellte, ständig eine Zunahme des Niederschlags (Globulin?) in den Röhrchen mit infiziertem Blut — im Gegensatz zu den normalen — und ebenso in den Röhrchen, die länger im Thermostaten (37—38°) gehalten wurden — im Gegensatz zu denen, die der Wirkung der höheren Temperatur weniger ausgesetzt gewesen waren.

---

[1]) Und dies um so mehr, wenn man bedenkt, daß nach den Erfahrungen Starkes (Über den Einfluß des Milieus, insbesondere der anorganischen Substanzen auf Eigenschaften von Eiweißkörpern (Zeitschr. f. Biol. **42**, 187—227, 1901) und nach kürzlich veröffentlichten Untersuchungen von Moll [Über künstliche Umwandlung von Albumin in Globulin (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 563—577, 1904) und Zur künstlichen Umwandlung von Albumin in Globulin. (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 311—312, 1906)] die Erwärmung genügen würde, um Albumin in Globulin umzuwandeln.

Es folgt in Kürze die Beschreibung, wie die Untersuchungen ausgeführt wurden.

Am 5. Februar 1907 wurden 6 Reihen Röhrchen — immer mit der einen oben erwähnten Reaktion — untersucht: die ersten beiden Serien von 5 Röhrchen enthielten alle normales Pferdeserum und stammten aus der obersten Schicht des Sammelgefäßes; die beiden folgenden Serien bestanden aus derselben Anzahl Röhrchen und enthielten dasselbe Serum, aber aus der mittleren Schicht; und schließlich stammten die beiden letzten Serien aus der untersten Schicht immer des gleichen Sammelgefäßes. Es resultierte hierbei ein stets reichhaltigerer Niederschlag von den ersten bis zu den letzten Serien — je nach der Tiefe der Schicht, die das Serum geliefert hatte.

Am 21. März 1907 bereitete ich 6 Reihen Röhrchen vor, von denen die ersten beiden normales Pferdeserum enthielten, die dritte und vierte gleichmäßig mit Staphylokokken vermengtes Serum, während die fünfte und sechste Reihe mit Streptokokken vermischt waren. Aber das ganze Serum aus allen Röhrchen dieser Serie wurde, ehe es in die betreffenden Gläser verteilt wurde, völlig gemischt, um die Differenzen, die durch die Verschiedenheit der Schichten — siehe das vorhergehende Experiment — entstanden waren, zu vermeiden. Bei diesen Serien nahm der Niederschlag von den Röhrchen mit normalem Serum bis zu den mit Staphylokokken und Streptokokken zu; das letztere ergab ein Volumen, das gleich 4 gesetzt werden muß, wenn man das des Staphylokokkenröhrchens mit 2 und das der normalen mit 1 bezeichnet. Man braucht nicht zu betonen, daß bei jedem Röhrchen einer jeden einzelnen Serie die Menge des Niederschlags die gleiche war.

Am 28. März 1907 impfte ich, um mich den Bedingungen zu nähern, die man für die Pathologie des lebenden Organismus anzunehmen hat, zwei Kaninchen vom selben Gewicht mit der gleichen Menge Flüssigkeit — die einmal steril, das andere Mal mit Streptokokken vermischt war. Die beiden Kaninchen starben zur gleichen Zeit; sie ergaben, als das infizierte Kaninchen schon Symptome von schwerer Septicämie zeigte, ein Serum, welches mit der gewöhnlichen Reaktion geprüft, einen Niederschlag zeigte, der beim infizierten aber doppelt so groß wie beim normalen war.

Am 3. April 1907 wurden die Versuche mit in vitro infiziertem Serum fortgesetzt. Verwendet wurde Pferdeserum. Die erste Serie dieses Serums wurde mit Streptokokken versetzt und 60 Stunden lang im Thermostaten (immer bei 37—38°) belassen. Die zweite Serie Serum wurde nicht geimpft, sondern für sich allein dieselbe Anzahl Stunden im Thermostaten belassen. Die dritte und fünfte Serie wurden wie die erste mit denselben Bakterien infiziert, aber die Wirkung des Thermostaten wurde verändert, indem die dritte Serie der Einwirkung der höheren Temperatur 48 Stunden und die fünfte nur 24 Stunden lang ausgesetzt wurde. Zur Kontrolle dieser beiden Serien beließ ich die vierte Serie Normalserum 48 Stunden lang im Thermostaten und ließ auf die sechste die Wärme nur 24 Stunden lang einwirken. Der Niederschlag wurde bei der ersten Serie volumetrisch zu 20 Einheiten ermittelt, bei der zweiten zu 17,5, bei der dritten zu 15, bei der vierten, fünften und sechsten zu 10. Dies beweist, daß das Normalserum eine Veränderung erfährt, die in einer Spaltung des Albumins infolge alleiniger Einwirkung von Wärme besteht; es beweist außerdem die spaltende Wirkung, die durch die Keime hervorgerufen wird.

Am 13. April 1907 wurde der Versuch in vivo an 2 Kaninchen wiederholt, welcher vollständig ebenso ausfiel wie der oben beschriebene vom 28. März.

Am 3. Mai 1907 endlich untersuchte ich folgende 10 Serien: die erste Serie bestand aus normalem Pferdeserum und war 4 Tage im Thermostaten gewesen, die zweite enthielt mit Streptokokken geimpftes Serum und war noch weitere 4 Tage im Thermostaten geblieben; die dritte enthielt Röhrchen desselben, mit äußerst virulenten Streptokokken geimpften Serums, das 3 Tage im Thermostaten geblieben war; die vierte enthielt dasselbe, mit Staphylococcus pyogenes albus (aus Panaritium) geimpfte Serum und war sofort 2 Tage lang der Wärme ausgesetzt worden. Die fünfte, sechste, siebente und achte Serie sind Wiederholungen der schon beschriebenen vierten — mit der einzigen Abweichung, daß in diesem Falle Rinderserum verwendet wurde. Die neunte und zehnte Serie enthielten wieder Pferdeserum — die neunte normales Serum, die zehnte mit Staphylococcus pyogenes aureus (aus Osteomyelitis) geimpftes — und blieben 3 Tage im Thermostaten.

Die Versuche ergaben folgenden Befund:

Serie			
Serie	I.	— Volumen des Niederschlags	= 1
„	II.	— „ „ „	= 4
„	III.	— „ „ „	= 3
„	IV.	— „ „ „	= 2
„	V.	— „ „ „	= 3
„	VI.	— „ „ „	= 6
„	VII.	— „ „ „	= 6
„	VIII.	— „ „ „	= 4
„	IX.	— „ „ „	= 1
„	X.	— „ „ „	= 3

Diese Resultate zeigen — immer in Übereinstimmung mit den vorhergehenden der anderen Experimente:

1. den spezifischen Unterschied der Sera, je nach den Tieren, von denen sie stammten;

2. die mit der Länge des Aufenthalts im Thermostaten zunehmende spaltende Wirkung[1]);

3. die Wirkung der Spaltung, die durch die Mikroorganismen veranlaßt ist und je nach den verschiedenen Mikroorganismen schwankt, mit denen experimentiert wurde (größer bei Streptokokken, geringer bei Staphylokokken).

Die Übereinstimmung aller dieser Resultate, die Verschiedenheit je nach der Herkunft des Serums, nach der Wärmeeinwirkung oder Impfung, ebenso wie die negativen Befunde bei der Suche nach Albumose beweisen:

1. daß die Forscher zu weit gegangen sind, welche die Annahme von Toxalbumosen, die vielleicht nur in wenigen Fällen vorhanden sind, verallgemeinert haben;

2. daß die pathogenen Agenzien das Serum durch Spaltung zwar chemisch verändern, sich aber darauf beschränken, Albumin in Globulin umzuwandeln, ohne daß sie jedoch Albumosen bilden.

Dieses Ergebnis meiner Untersuchungen hat um so größere

---

[1]) Dies würde auch mit den oben zitierten Resultaten von Starke und Moll übereinstimmen.

Bedeutung, als die früheren Beobachtungen zu ziemlich unsicheren Schlüssen geführt hatten.[1])

Und wenn auch noch die wirkliche Natur jener Körper zu bestimmen bleibt, die wie die Globuline durch Salicylsäure in bestimmter Verdünnung niedergeschlagen werden, so wird man doch zugeben, daß die Frage durch den sicheren Beweis der ständigen Zunahme dieser Körper sowohl in vitro als im Tierversuch einen großen Schritt vorwärts gebracht ist.

Eine chemische Veränderung des Blutes findet also bei Einwirkung pathogener Bakterien statt; diese Veränderung ist in ihren Merkmalen beim Blute in vitro und in vivo gleich; die Existenz der so oft erwähnten Toxalbumosen ist noch nicht so entscheidend und sicher bewiesen.

---

[1]) Um einen einzigen Forscher zu nennen, erwähne ich Sciolla. (Über einige chemisch-physikalische Veränderungen des Blutes bei verschiedenen Krankheitsformen. — Rivista Clinica, Archivio Italiano di Clinica medica 31, 145—204, 1892.)

Über die physikalisch-chemischen Änderungen der Muskeln während der Ermüdung.

Von

Dr. G. Buglia,
Assistenten am Institut.

(Aus dem Physiologischen Institut der Kgl. Universität Neapel [Direktor: Prof. Fil. Bottazzi].)

(Eingegangen am 3. August 1907.)

Die Änderungen der molekularen Konzentration in den Organen während und nach ihrer Funktionstätigkeit sind schon von verschiedenen Autoren hervorgehoben worden. L. Sabbatani[1]) bestimmte direkt den kryoskopischen Wert des Muskels während der Ermüdung, und E. Cooke[2]) konstatierte die Schwankung der molekularen Konzentration des langer Arbeit ausgesetzten Gastrocnemius des Frosches nach der Methode der Eintauchung des Muskels in Lösungen. Nach der Wasseraufnahme oder nach dem Wasserverlust von seiten des Muskels beurteilte er die Zunahme oder Abnahme seines osmotischen Druckes. Auf gleiche Weise studierten F. Bottazzi und P. Enriques[3]) an den Speicheldrüsen des Octopus den innern osmotischen Druck und seine Schwankungen.

Bei allen diesen Untersuchungen erhielt man ein konstantes Resultat: Die molekulare Konzentration eines vom Körper getrennten Organs, das eine gegebene Arbeit geleistet hat, ist größer

---

[1]) L. Sabbatani, Détermination du point de congélation des organes animaux. Journal de Physiologie et de Pathologie générale 3, 930—950, 1901.

[2]) E. Cooke, Experiments upon the osmotic properties of the living frog's muscle. Journ. of Physiol. 20, 3, 137—149, 1898.

[3]) F. Bottazzi und P. Enriques, Sulle proprietà osmotiche delle glandole salivari dell' Octopus macropus nel riposo e in seguito all' attività secretiva. Vol. pubbl. pel giubileo di Luciani. Milano 1900.

als diejenige, welche demselben Organ in der Ruhe eigen ist, ja innerhalb gewisser Grenzen um so größer, je größer die geleistete Arbeit war.

Die Experimente der zuletzt zitierten Autoren haben ferner klar gezeigt, was während der funktionellen Tätigkeit des nicht mehr isolierten, sondern in situ befindlichen Organs vor sich geht. Unter diesen Bedingungen schwankt der osmotische Druck nicht andauernd in bemerkenswerter Weise, weil das Blut, indem es Wasser liefert, die Zunahme der osmotisch aktiven Moleküle sogleich kompensiert, wenn diese sich bilden. So wurde hinsichtlich der Speicheldrüsen des Octopus das konstatiert, was schon Claude Bernard[1]) und Rancke hinsichtlich der Muskeln festgestellt hatten.

Wenn es deshalb auch möglich ist, nach diesen letzten vereinzelten Beobachtungen die schnelle Wiederherstellung des osmotischen Druckes zu beurteilen, den durch eine mit den organischen Funktionen zusammenhängende Ursache gestört wurde, so können wir uns doch nach ihnen keine hinlänglich genaue Vorstellung von den Grenzen machen, innerhalb welcher diese Kompensation eintritt. Deshalb hielt ich es für angezeigt, einige Untersuchungen an höheren Tieren anzustellen über die Schwankungen des osmotischen Druckes und der elektrischen Leitfähigkeit des Muskels (d. h. des Muskelsaftes, den ich auf eine Art erhielt, die bald beschrieben werden soll), der nicht vom Körper getrennt ist, während einer allmählich steigenden Arbeit bis zur Ermüdung; gleichzeitig stellte ich Untersuchungen über die Schwankungen des Blutes an, indem ich versuchte, auf diese Weise auch die Modifikationen des normalen Austausches klar darzulegen, der unter solchen Bedingungen zwischen dem Blute und dem Muskelgewebe eintritt.

In der Tat haben die von Fano und Baldi[2]), von Haser und Barbiera und in jüngster Zeit von D'Errico und Jappelli[3]) angestellten Untersuchungen ergeben, daß chemische und physiko-

---

[1]) Bernard Claude, Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. Tome I, II. Paris 1859.

[2]) G. Fano und D. Baldi, Gli albuminoidi della linfa e del sangue nel lavoro muscolare. Lo Sperimentale, luglio 1883.

[3]) G. Jappelli und G. D'Errico, La linfa degli arti durante i movimenti passivi ed attivi. Arch. di Fisiologia 4, 4, 315, 1907.

chemische Schwankungen im Blut und in der Lymphe während der Muskelarbeit eintreten.

Meine Experimente wurden an Hunden von fast gleichem Gewicht (6—8 kg) vorgenommen, die ich einige Tage bei konstanter Diät und in vollkommener Ruhe gehalten hatte: nach 24stündigem Hungern wurden sie den Experimenten unterworfen.

Die Muskelarbeit wurde vermittels allgemeiner Faradisation hervorgebracht und von den beiden mit dem Dubois-Reymondschen Schlitten in Verbindung stehenden Polen wurde einer am Nacken, der andere an der sacro-lumbaren Region angebracht. Das Hämmerchen des Schlittens machte ca. 800 Oszillationen in der Minute, denen kräftige Muskelkontraktionen entsprachen, die an den hinteren vollständig frei gelassenen Gelenken ganz deutlich sichtbar waren.

Bei jedem Experiment war die Zeit der Anwendung der Elektroden verschieden, so daß auf diese Weise eine verschiedene Dauer der Muskelarbeit erhalten wurde: von einem Minimum von 10 bis zu einem Maximum von 80′. Da ich jedoch bei früheren Experimenten gesehen hatte, daß der ohne Unterbrechung angewandte Strom das Tier in kurzer Zeit und derart ermüdete, daß dadurch eine intensive Polypnöe hervorgerufen wurde, was allein schon genügt, um die Erscheinung, die ich studieren wollte, zu verändern oder zu komplizieren, so ließ ich nach je zwei Minuten der Arbeit eine Minute der Ruhe eintreten. So zeigten sich die Schwankungen bei der Atmungsfrequenz, die ich namentlich bei lange dauernden Experimenten beobachtet hatte, entweder gar nicht oder sie waren wenigstens unbedeutend.

Sobald die Faradisation des Tieres aufgehört hatte, machte ich das Gelenk blutleer vermittels austreibender elastischer Binde, umwickelte seine Basis mit einem elastischen Gummiband und trennte die Muskelmassen ab. Das auf diese Weise vollständig blutleer gemachte Fleisch eignete sich sehr gut für meine Untersuchungen. Daraus extrahierte ich den Muskelsaft nach der Fredericqschen[1]) Methode und bestimmte dann die molekulare Konzentration und die elektrische Leitfähigkeit. Gleichzeitig

[1]) L. Fredericq, Crioscopie des solides de l'organisme. — Procédés et résultats. Bull. de l'Ac. Royale de médecine de Belgique, 1902. — Id., Notes sur la concentration moléculaire des tissus solides des animaux d'eau douce. Arch. Intern. de Physiol. 2, 3, 137, 1905.

entnahm ich der V. femoralis des andern Gelenkes 30 ccm Blut, die mir in 24 Stunden eine für die Bestimmung der molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit genügende Menge Serum lieferten. Diese nämlichen physiko-chemischen Bestimmungen machte ich auch am Serum des Blutes, das ich stets, ehe ich das Tier faradisierte, aus der V. jugularis externa auffing. Dies diente mir nicht nur dazu, die Schwankungen abzuschätzen, die sich in dieser Flüssigkeit infolge der Muskelarbeit zeigten, sondern auch vor Beginn des Experimentes ein Anzeichen hinsichtlich der Bedingungen des osmotischen Gleichgewichts der Gewebe mit dem Blute zu erhalten. Sodann verglich ich die einzelnen Werte, die ich nach und nach aus der Untersuchung des Saftes von ermüdeten Muskeln erhielt, mit denjenigen, welche das Mittel aus den Ergebnissen verschiedener Experimente darstellten, die ich an den nicht ermüdeten Muskeln normaler Hunde gemacht hatte. Dies tat ich, weil es mir nicht ratsam erschien, homologe Gelenke eines und desselben Tieres direkt zu vergleichen, indem ich ein Gelenk durch direkte Reizung ermüdete und das andere in vollkommener Ruhe ließ.

Wie ich schon andeutete, befolgte ich bei Bestimmung der molekularen Konzentration des Saftes der Muskeln die Methode von Fredericq (l. c.), die ungeachtet der ihr anhaftenden unvermeidlichen Ursachen des Irrtums (wie z. B. die hohe Temperatur, auf welche die Stücke der Muskeln gebracht werden) bei einer vergleichenden Untersuchung gute und sichere Resultate ergibt, namentlich wenn man auf die Ausführung der angegebenen Vorschriften eine gewissenhafte Aufmerksamkeit verwendet hat. Andererseits sind einige der anderen Methoden nicht von Ursachen des Irrtums frei (direkte Bestimmung des Gefrierpunktes der in den Beckmannschen Apparat gebrachten Muskeln), während einige andere (Methode des Wiegens des Muskels und Methode des Eintauchens desselben in isotonische Lösungen mit darauffolgender Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit dieser letzteren [Sabbatani]) sich schlecht für meine Experimente eigneten.

Bei der Bestimmung der molekularen Konzentration des Muskelsaftes verwendete ich den Beckmannschen Apparat und bei der der elektrischen Leitfähigkeit bei einer Temperatur von 37° C die Methode von Kohlrausch. Die Flüssigkeit war im

voraus filtriert. Auf gleiche Weise und nach vorausgegangener ½ stündiger Zentrifugierung führte ich die physiko-chemischen Untersuchungen des vor oder nach der Faradisation aufgefangenen Blutes aus.

Die Resultate sind in den Tabellen I und II zusammengestellt.

Tabelle I.

Experiment	Datum	Hund		Δ		Elektrische Leitfähigkeit K 37° C		Bemerkungen
		Geschlecht	Gewicht in kg	Blutserum	Muskelsaft	Blutserum	Muskelsaft	
1.	9. II. 07	♂	6,300	0°,595	0°,755	152×10-4	162×10-4	1. Muskelsaft leicht sauer, fleischrot, klar. Blutserum rosenrot, leicht opalescent.
2.	22. II. 07	♂	11,00	0°,590	0°,752	160×10-4	160×10-4	2. Muskelsaft leicht sauer, fleischfarben, klar. Blutserum rosenrot, leicht opalescent.
3.	30. I. 07	♂	8,500	0°,577	0°,722	153×10-4	156×10-4	3. Muskelsaft leicht sauer, fleischrot, klar. Blutserum rosenrot.
4.	21. II. 07	♂	10,00	0°,625	0°,790	152×10-4	156×10-4	4. Muskelsaft leicht sauer, fleischrot, klar. Blutserum klar, fast farblos.
5.	13. IV. 07	♀	6,600	0°,590	0°,745	148×10-4	155×10-4	5. Muskelsaft sauer, rosenrot. Blutserum farblos.
			Mittel	0°,595	0°,753	153×10-4	158×10-4	

Die in Tabelle I verzeichneten Werte, welche die molekulare Konzentration des Dekokts der nicht ermüdeten Muskeln angeben, zeigen untereinander Schwankungen analog dem, was Fredericq unter gleichen Bedingungen erhielt. So sinkt Δ, während es beim ersten und zweiten Experiment gleich 0,755 resp. 0,753 ist, beim dritten auf 0,722 und steigt beim vierten Experiment auf 0,790.

Diese zur Genüge sichtbaren individuellen Unterschiede könnten Zweifel hinterlassen bezüglich der wahren Auslegung der Resultate, die wir späterhin erklären werden; wenn man aber die Resultate der Werte der molekularen Konzentration des Blutserums mit denen des Muskelsaftes vergleicht, so beobachtet man, daß hohen Werten von Δ des Muskelsaftes auch hohe Werte des Δ des Blutserums entsprechen und umgekehrt, weshalb es leicht und möglich ist, eine konstante Beziehung zu konstatieren. Nach meinen Experimenten ergibt sich diese Beziehung gleich 0,158.

Man muß also auf diese Beziehung eher als auf die Schwankungen der absoluten Werte sein Urteil über die Modifikationen gründen, die einige Ursachen bei dem normalen osmotischen Gleichgewicht der Gewebe herbeiführen können.

Ganz das gleiche läßt sich hinsichtlich der Werte der elektrischen Leitfähigkeit sagen.

In Tabelle II führe ich die Resultate an, die ich bei Hunden erhielt, die der Muskelarbeit unterzogen wurden.

Die in den Kolumnen a, b, c enthaltenen Zahlen stellen den Wert von Δ des Blutserums dar vor der Faradisation, den selben nach der Faradisation und den des nach der Arbeit extrahierten Muskelsaftes. Die in den Kolumnen d, e, f enthaltenen bezeichnen K bei 37° C derselben Flüssigkeiten.

Betrachtet man die Werte der molekularen Konzentration, so sieht man, daß das Δ des Blutserums des normalen Hundes beinahe konstant ist und den von anderen Autoren gefundenen Werten entspricht. Dieselbe Gleichheit der Werte erhält man nicht bei den am Serum nach der Faradisation gemachten Bestimmungen. In diesem Falle finden wir Δ vergrößert, aber nicht immer in demselben Grade. Von einer Vergrößerung von 0,020 sinkt es auf eine solche von 0,05. Und es scheint, daß die Zunahme der Zeit der Faradisation keinen direkten und ausschließlichen Einfluß ausübt, da die Vergrößerung des Δ-Wertes nicht im Verhältnis zur Zeit erfolgte, sondern sowohl wenn die Ermüdung mäßig als auch wenn sie übermäßig war. Ja, zuweilen ist die Erhöhung in diesem letzteren Falle eine minimale.

Größeres Interesse erregen die Zahlen der Kolumne c. Prüft man sie in ihrer Gesamtheit, so bemerkt man, daß sie allmählich abnehmen mit der Zunahme der Arbeitszeit: von Werten von Δ, die beinahe denjenigen der normalen Muskeln ($\Delta = 0{,}753$) gleich sind, sinken sie bis zu verhältnismäßig niedrigen Werten, so daß der Unterschied zwischen dem Δ des ersten und dem des letzten Experimentes 0,105 beträgt.

In der Tat existiert keine genaue Proportionalität zwischen der Arbeitszeit und der Abnahme des Δ; aber hier muß bemerkt werden, daß man bei dieser Art von Experimenten sich nicht immer ein vergleichendes Urteil bilden kann, wobei man sicher wäre, eine genaue Übereinstimmung der Zahlen zu finden. In der Tat können unendlich viele, teils bekannte, teils unbekannte Ur-

Tabelle II.

Experiment	Datum	Hund		Zeit der Faradisation in Minuten	Δ		
		Geschlecht	Gewicht in kg	A	Serum vor der Faradisation a	Serum nach d. Faradisation b	Muskelsaft nach d. Faradisation c
1.	15. III. 07	♂	5,600	12′	0°,610	0°,630	0°,750
2.	7. III. 07	♀	6,500	22′	0°,568	0°,585	0°,730
3.	16. III. 07	♂	7,00	28′	0°,595	0°,600	0°,735
4.	8. II. 07	♂	6,900	30′	0°,585	0°,600	0°,735
5.	5. III. 07	♂	7,450	38′	0°,600	0°,630	0°,720
6.	25. I. 07	♂	6,00	40′	0°,575	0°,590	0°,805
7.	25. III. 07	♂	6,00	48′	0°,600	0°,660	0°,740
8.	22. II. 07	♂	6,500	50′	0°,595	0°,600	0°,680
9.	18. III. 07	♂	7,900	60′	0°,590	0°,640	0°,665
10.	8. III. 07	♀	7,600	80′	0°,590	0°,615	0°,645

sachen die Ergebnisse ändern, die man, wie es scheinen möchte, auch leicht voraussehen könnte. So sind meines Erachtens sowohl die Art der Ernährung des Tieres[1]) als auch die Verschiedenheit der Rasse und des Geschlechts, das Alter und die Jahreszeit, in der die Untersuchungen angestellt werden, nicht ohne Einfluß

[1]) Zwei an normalen Hunden, die lange mit Fleisch gefüttert wurden und reich an Fett waren, gemachte Experimente ergaben Werte der Konzentration des Muskelsaftes und des Blutserums, die untereinander sich viel weniger unterscheiden als diejenigen, welche von Hunden bei gewöhnlicher Diät erhalten wurden.

Tabelle II.

K 37° C			Bemerkungen
Serum vor der Faradisation	Serum nach der Faradisation	Muskelsaft nach der Faradisation	
d	e	f	
155×10^{-4}	153×10^{-4}	159×10^{-4}	1. Muskelsaft sauer, fleischfarben, klar. Blutserum leicht opalescent. Atemzüge des Tieres 24 in der Minute.
154×10^{-4}	151×10^{-4}	158×10^{-4}	2. Muskelsaft sauer, fleischfarben, klar. Blutserum reich an roten Körperchen. Atemzüge des Tieres 18—20 in der Minute.
152×10^{-4}	153×10^{-4}	158×10^{-4}	3. Muskelsaft leicht sauer, rosenrot. Blutserum rosenrot, leicht opalescent. Atemzüge des Tieres 20 bis 50 in der Minute.
151×10^{-4}	150×10^{-4}	158×10^{-4}	4. Muskelsaft sauer, fleischfarben. Blutserum leicht opalescent. Atemzüge 20—22 in der Minute.
154×10^{-4}	154×10^{-4}	164×10^{-4}	5. Muskelsaft saure, fleischfarben. Blutserum leicht opalescent. Atemzüge 16—35 in der Minute.
154×10^{-4}	154×10^{-4}	166×10^{-4}	6. Muskelsaft sauer, fleischfarben, klar. Blutserum klar. Atemzüge des Tieres 16—22 in der Minute.
154×10^{-4}	156×10^{-4}	157×10^{-4}	7. Muskelsaft sauer, fleischfarben. Blutserum leicht opalescent. Atemzüge des Tieres 18—20 in der Minute.
156×10^{-4}	156×10^{-4}	152×10^{-4}	8. Muskelsaft sauer, fleischfarben. Blutserum klar, fast farblos. Atemzüge des Tieres 14 in der Minute.
153×10^{-4}	153×10^{-4}	152×10^{-4}	9. Muskelsaft sauer, fleischfarben, klar. Blutserum opalescent, fleischfarben. Heftige Polypnöe des Tieres (ca. 200 Atemzüge in der Minute).
151×10^{-4}	153×10^{-4}	—	10. Muskelsaft sauer, fleischfarben, trübe. Blutserum opalescent, fleischfarben. Atemzüge des Tieres 18—24 in der Minute.

auf die Beziehung, die zwischen molekularer Konzentration des Blutes und des Muskelsaftes besteht, wenn das Organ in Ruhe ist. Auch ist die Annahme zulässig, daß dies geschieht, wenn das Organ in Funktion ist (z. B. bei der Muskelarbeit). Zu dem tritt noch die Schwierigkeit, die Arbeit genau im Verhältnis zur individuellen Reizbarkeit, Kraft und Resistenz zu regulieren. Deshalb kann bei Auslegung der einzelnen Resultate eine deutliche und ganz zuverlässige Erklärung einiger Werte fehlen, die von der allgemeinen Regel abweichen, wie die des Δ des Muskelsaftes beim sechsten Experiment.

Was wir hinsichtlich des osmotischen Druckes gesagt haben, könnten wir hinsichtlich der elektrischen Leitfähigkeit wiederholen. Auch hier sind die Werte des normalen Blutserums offenbar miteinander übereinstimmend, wenn nicht vollkommen identisch, und ähnlich den in Tabelle I verzeichneten. Es scheint also gewiß zu sein, daß bei Hunden keine schätzenswerten individuellen Unterschiede bezüglich der elektrischen Leitfähigkeit des Blutserums vorhanden sind, und daß man mit genügender Genauigkeit das Mittel daraus folgern kann, das sich bei meinen Experimenten $= 153{,}4 \times 10^{-4}$ ergibt.

In der letzten Kolumne f, in der die Werte der elektrischen Leitfähigkeit des Muskelsaftes nach der Arbeit angegeben sind, zeigen sich ähnliche Schwankungen wie bei den schon in bezug auf das Δ beobachteten. Von einem Werte, der beinahe dem bei nicht ermüdeten Hunden erhaltenen gleich ist, geht es zu viel kleineren Werten hinab, und die Abnahme ist auch in diesem Falle weder eine allmähliche noch eine im Verhältnis zur Arbeitszeit stehende, sondern sie zeigt Schwankungen, die den hinsichtlich der molekularen Konzentration erwähnten entsprechen. Wirklich zeigen sich beim zweiten, dritten und vierten Experiment Werte, die sich wenig von den unter normalen Bedingungen erhaltenen unterscheiden.

Ein sehr leicht erkennbarer Unterschied jedoch zwischen den die molekulare Konzentration und diesen die elektrische Leitfähigkeit betreffenden Resultaten ist der, daß bei letzteren K vollkommen gleich bleibt, während bei jenen das Δ des Blutserums nach der Faradisation zunimmt.

Aus dieser zweiten Reihe von Experimenten ergibt sich also klar die Verminderung der molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit des Muskelsaftes nach der Faradisation des Tieres. Um aber die Veränderungen, welche die Muskelarbeit in der Beziehung herbeiführt, die ich stets gleich gefunden habe zwischen den physikalischen Konstanten des Blutserums und denen des Saftes, und um außerdem diese Schwankungen mit Bezug auf die geleistete Arbeit zu beurteilen, hielt ich es für angemessen, die Resultate auch in Gestalt einer graphischen Kurve vorzulegen (Fig. I).

Auf den Ordinaten habe ich die bei jedem Experiment erhaltenen Zahlenunterschiede zwischen Δ und K des Blutserums

und Δ und K des Muskelsaftes nach der Ermüdung verzeichnet, auf den Abszissen die Zeit der Faradisation in der Minute. Die vollständige Kurve bezieht sich auf die molekulare Konzentration, die punktierte auf die elektrische Leitfähigkeit.

Die Kurve, welche die Beziehung zwischen der molekularen Konzentration des Serums und des Muskelsaftes ermüdeter Tiere

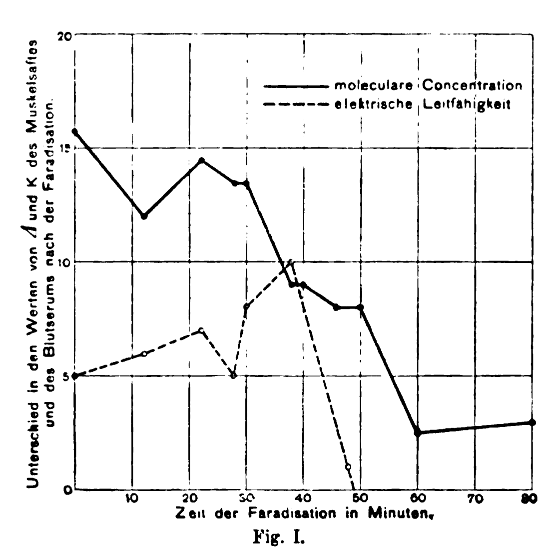


Fig. I.

darstellt, hat, wenn sie auch einen unregelmäßigen Verlauf zeigt, die Tendenz zu sinken. In einer ersten Periode jedoch, solange man die geleistete Arbeit noch für leicht halten kann (30′ Faradisation), finden sich Werte, die nicht sehr von den unter normalen Bedingungen erhaltenen abweichen; über 30′ hinaus beginnen die Unterschiede deutlich sichtbar zu werden, bis nach 80′ Faradisation ein sehr bedeutender Unterschied sich zeigt.

Die Kurve der elektrischen Leitfähigkeit kann noch deutlicher in zwei Perioden unterschieden werden: in der ersten, die bis gegen 40′ der Arbeit geht, steigt sie leicht, allmählich und gleichmäßig an; in der zweiten sinkt sie dann plötzlich, indem sie fast eine senkrechte Richtung zur Achse der Abszisse annimmt, und neigt sich bis unter den normalen Wert. Aus diesen graphischen Kurven ergibt sich klar, daß durch die übertriebene Funktionstätigkeit der Muskeln diejenige konstante Beziehung verschwindet, die während der Ruhe des Tieres zwischen der

molekularen Konzentration und der elektrischen Leitfähigkeit des Muskelsaftes und des Blutserums besteht.

Aus den angeführten Untersuchungen lassen sich, wie mir scheint, die nachstehenden Schlußfolgerungen ziehen:

Der vermittels der (Fredericqschen) Methode des Abkochens des Gewebes erhaltene Durchschnittswert von Δ des Saftes der normalen Muskeln ist stets größer als der des Blutserums desselben Tieres, die elektrische Leitfähigkeit hingegen zeigt nicht immer einen bemerkenswerten Unterschied von der des Blutserums. Kann man daraus entnehmen, daß Muskelsaft und Blutserum normalerweise im Gleichgewicht sind, was die Elektrolyten, nicht aber was ihre gesamte osmotische Konzentration betrifft?

Diese Folgerung scheint mir nicht gerechtfertigt zu sein, wenn man bedenkt, daß die Behandlung, der die Muskeln unterzogen werden, um den Saft zu erhalten, eine solche ist, die vermuten läßt, daß sie nicht nur allen den Veränderungen entgegengehen, die den Tod eines jeden Gewebes begleiten und sich durch eine beträchtliche Erhöhung der molekularen Konzentration des betreffenden Saftes äußern[1]), sondern daß sie auch die Prozesse durchmachen, welche die Erscheinung der Erstarrung und der Wärmegerinnung begleiten, die wahrscheinlich dazu geeignet sind, lösbare Substanzen in Freiheit zu setzen, die nicht zur Kategorie der elektrolytischen Körper gehören.

Die Werte des osmotischen Druckes des Muskelgewebes stehen, obschon sie ziemlich merkliche individuelle Schwankungen zeigen, so daß man sie nicht als übereinstimmend betrachten kann, in konstanter Beziehung zu der gesamten osmotischen Konzentration des Blutes. Der Unterschied zwischen dem Δ des Muskelsaftes und dem des entsprechenden Blutes zeigt minimale Schwankungen und ist im Durchschnitt $= 0°,158$.

Bei ermüdeten Tieren ergibt sich aus den angegebenen Zahlen, daß der osmotische Druck des Blutes konstant gesteigert ist, obgleich nicht immer in hohem Grade und fast nie im Verhältnis zur Dauer der Ermüdung, während die elektrische Leitfähigkeit des Serums sich von der normalen nicht unterscheidet.

[1]) Siehe die Bemerkungen von Fil. Bottazzi, Chimica fisica 304 e segg. Milano 1906.

Die elektrische Leitfähigkeit und der osmotische Druck der ermüdeten Muskeln (in situ) zeigen konstante Verminderung, vorausgesetzt, daß die Ermüdung genügend verlängert worden ist.

Dieses Resultat stimmt mit den theoretischen Ansichten überein und dies kann keine Verwunderung erregen. Denn da die Blut- und Lymphzirkulation nicht gestört waren, so wurden gewiß bei meinen Experimenten die normalen Vorgänge der Regulierung des osmotischen Druckes nicht gehindert; mit anderen Worten, die Muskeln konnten Wasser aus der Lymphe und aus dem Blut aufnehmen und an die zirkulierenden Flüssigkeiten wenigstens einen Teil der osmotisch-aktiven Substanzen abgeben, die sich während der Ermüdung bilden. Und wenn es nicht immer gelingt, die Veränderungen der osmotischen Konzentration von in situ gelassenen Organen zu erspähen, wie die auch von anderen Experimentatoren erhaltenen Resultate beweisen, die von diesem Gesichtspunkte aus keine dauernden Veränderungen in Organen sahen, die zum Funktionieren angereizt wurden, so erklärt sich das ohne Zweifel daraus, daß sie nicht eine so übermäßige Arbeit veranlaßten, die merklich oder stabil-dauernd das normale osmotische Gleichgewicht der Organe, an denen man experimentiert, stören kann. Bei den ersten von mir ausgeführten Experimenten, bei denen die Ermüdung keine schwere war, erhielt ich in der Tat auch Werte, die sich wenig von den normalen unterschieden. Und man könnte hier nicht einwenden, daß man auf die erhaltenen Werte kein großes Gewicht legen dürfe wegen der mit der befolgten Methode verbundenen Unvollkommenheiten, namentlich wegen der hohen Temperatur, welcher der Muskelbrei ausgesetzt wird, da dieser Einwand hinfällig würde, wenn man bedenkt, daß bei Organen, die vom lebenden Tier abgetrennt waren, welches auch die Methode war, die zur Bestimmung des osmotischen Druckes befolgt wurde, verschiedene Autoren übereinstimmende Resultate erhalten haben. Der Gefrierpunkt des Organs steigt allmählich mit der Zeit, die seit dem Moment der Trennung vom lebenden Organismus verflossen ist, d. h. in dem Maße wie die Disintegrationsprozesse intensiv werden und mithin die Zahl der osmotisch-aktiven Moleküle (Fleisch-Milchsäure, Kohlensäure usw.) zunimmt. Dies haben die Experimente Fredericqs[1])

---

[1]) L. Fredericq, l. c.

nachgewiesen, dessen Methode ich gewählt und die ich streng befolgt habe, in Übereinstimmung mit denen Sabbatanis[1]), der die Methode des direkten Gefrierens der Muskeln wählte, und mit denen von Bottazzi und Enriques[2]) über die Speicheldrüsen des Octopus, welche diese Autoren in isotonische und anisotonische Lösungen brachten, worauf sie die Gewichtsschwankungen bestimmten, welche die Drüsen erfahren.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß der stark ermüdete Muskel, indem er aus den zirkulierenden Flüssigkeiten Wasser resorbiert, dazu gelangt, daß er eine osmotische Konzentration zeigt, die auch geringer ist als die der normalen Muskeln; wenn man aber die Mannigfaltigkeit und Wirksamkeit der Regulationsmechanismen des osmotischen Druckes bedenkt und sich an die starke Tendenz erinnert, die der Muskel hat, Wasser aufzunehmen[3]), ohne Zweifel weil für ihn ein Zustand wahrer Ruhe nicht existiert, so versteht man ohne Mühe, daß die Zunahme der molekularen Konzentration des Muskels in situ während der Ermüdung mehr als kompensiert werden kann durch die Regulationsvorgänge, und daß es deshalb nicht nur nicht gelingt, sie zu erspähen und deutlich nachzuweisen, sondern daß man zu einem entgegengesetzten Resultat gelangt. Der Muskel resorbiert also einerseits schnell Wasser während der Ermüdung (wahrscheinlich auch während einer einfachen Kontraktion), andererseits scheidet er osmotisch aktive Substanzen aus.

So erklären sich uns sowohl die Änderungen des osmotischen Druckes des Muskels und die gleichzeitige Zunahme des Δ des Blutes, die von mir stets konstatiert wurde, und zuletzt die von Fano und Baldi[4]) im Blute ermüdeter Tiere beobachtete größere Menge des trockenen Rückstandes. Die Resultate dieser meiner Untersuchungen stimmen auch vollständig mit denen überein, die Jappelli und D'Errico[5]) über die physiko-chemischen Veränderungen der Lymphe der Gelenke während der aktiven Bewegungen angestellt haben.

---

[1]) L. Sabbatani, l. c.

[2]) F. Bottazzi und P. Enriques, l. c.

[3]) Vgl. A. Jappelli, Rôle du tissu musculaire dans la régulation de la pression osmotique du sang. Arch. ital. d. Biol. 1906, 907, III, 369.

[4]) G. Fano und D. Baldi, l. c.

[5]) G. Jappelli und G. D'Errico, l. c.

Diese Autoren haben nachgewiesen, daß die dem Ductus lymphaticus brachialis des Hundes während der aktiven Bewegungen des Gelenkes entnommene Lymphe nicht nur nicht reichlicher ist als diejenige, welche man während der passiven Bewegungen erhält, sondern daß sie nicht selten spärlicher ist; sie haben auch in der Lymphe selbst Zunahme des osmotischen Druckes und Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit konstatiert. Die geringere Menge und der höhere osmotische Druck der Lymphe während der Tätigkeit der Muskeln stimmt überein mit der Aufnahme von Wasser seitens der ermüdeten Muskeln. Was die Verminderung der elektrischen Leitfähigkeit der Lymphe betrifft, so kann sie die einfache Folge davon sein, daß die Kolloide und die nicht elektrolytisch gelösten Körper in der Lymphe zunehmen.

Endlich werfen diese Untersuchungen etwas Licht auf die Entstehung des Muskelödems durch Ermüdung und der Muskelhypertrophie durch Arbeit.

Über die chemische Inaktivierung und Regeneration der Komplemente.

Von

Hideyo Noguchi.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research., N. Y.)

(Eingegangen am 9. August 1907.)

Die Tatsache, daß die Komplementeigenschaften des Serums mit der Zeit von selbst verschwinden, und daß verschiedene physikalische Einwirkungen wie Sonnenlicht und Temperaturen von etwa 55° C, schnell eine Inaktivierung hervorrufen, hat zu der Annahme geführt, daß Komplemente hochgradig labile Verbindungen seien. Es ist jedoch keinerlei Beweis dafür erbracht worden, daß das Verschwinden der genannten Eigenschaft notwendigerweise gleichbedeutend mit einer Molekülzersetzung der fraglichen Substanzen sei. Im Gegenteil ist es durchaus nicht unmöglich, daß eine Inaktivierung hauptsächlich auf Veränderungen des umgebenden Milieus beruht, in welchem die Komplemente ursprünglich wirksam gewesen sind. Bisher hat man der Möglichkeit, daß die übrigen Bestandteile des Serums eine Rolle bei der Art und Weise der Wirkung von Komplementen spielen, wenig Beachtung geschenkt. Dasselbe gilt auch von dem Einfluß gewisser chemischer Substanzen auf die Komplementeigenschaft des Serums.

Gesetzt, man findet einen chemischen Körper, der diese Fähigkeit aufhebt, so ist damit doch noch nicht entschieden, ob er die aktiven Substanzen zerstört oder nur das Milieu in einer Weise ändert, welche die Wirkung der Komplemente beeinträchtigt. Solange wir es mit einer komplizierten Mischung ver-

[1]) Vorgetragen auf der Jahresversammlung der Society of American Bacteriologist am 28. Dezember 1906.

schiedener organischer und unorganischer Körper im Serum zu tun haben, können wir keinerlei Schlüsse auf direkte chemische Vorgänge zwischen Komplementen und den hinzugesetzten Substanzen ziehen. Trotzdem wird ein systematisches Studium der Wirkung verschiedener Säuren, Alkalien und Salze auf diese eigentümliche Eigenschaft des Serums ein wertvoller Leitfaden für die Aufklärung der chemischen Struktur der Komplemente sein.

Man kann in jedem Falle hoffen, auf Grund solcher Forschungen bestimmte Folgerungen ableiten zu können. Die vorliegende Arbeit ist unternommen worden, um die Frage der chemischen Stabilität der Komplemente des Serums zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurde ihr Verhalten zu verschiedenen Säuren, Alkalien und Salzen geprüft.

Inaktivierung von Komplementen durch Säuren.

Zum Versuch diente Meerschweinchenserum, das als Komplement zur Reaktivierung zweier Arten von Immunamboceptoren gebraucht wurde. Der eine war das auf 56° C erhitzte Serum einer gegen Blutkörperchen vom Rind immunisierten Ziege, und der andere das Serum eines Kaninchens, das mit Hühnerblutkörperchen vorbehandelt war. Die Wirkung der Säuren wurde außerdem an den hämolytischen Bestandteilen des normalen Hundeserums untersucht; in diesem Falle wurden Blutkörperchen vom Kaninchen zur Feststellung der Aktivität nach voraufgegangener Behandlung mit Säuren benutzt.

Die endgültige Mischung von Komplement, Amboceptor, Säure und Blutkörperchen hatte in allen Versuchen ein Volumen von 2,5 ccm, und das osmotische Gleichgewicht wurde durchgehends durch 0,9prozentige Kochsalzlösung hergestellt.

Die Blutkörperchen waren sorgfältig gewaschen und wurden der Flüssigkeit in 5prozentiger Aufschwemmung zugesetzt. Die Beobachtungen wurden nach zweistündigem Stehen im Brutschrank bei 37° C und nach 16stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur angestellt.

Die Säurelösungen waren in 0,9prozentiger Salzlösung hergestellt, und jede wurde auf den Säuregrad gebracht, der $^1/_{40}$ n-zweibasischer Säure entsprach. Folgende Säuren gelangten zur Verwendung: Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Butter-

säure, Oxybuttersäure, Oxalsäure, Citronensäure, Weinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure, Citraconsäure, Itaconsäure, Glycerinphosphorsäure, Harnsäure und Nucleinsäure.

Mit Ausnahme der Harnsäure, die keine hämolytischen Eigenschaften besitzt, entfalteten sämtliche Säuren ungefähr den gleichen Grad von hämolytischer Wirkung, doch waren ausgesprochene Unterschiede in der Schnelligkeit der Reaktion zu bemerken; die Hämolyse erfolgte am schnellsten bei leicht dissoziierbaren Säuren.

In der Regel genügte der Zusatz von 0,4 ccm der Säurelösung ($^1/_{40}$-n) zu 2,5 ccm einer 5prozentigen Aufschwemmung gewaschener Blutkörperchen vom Meerschweinchen gerade, um vollständige Hämolyse zu erzeugen, während 0,2 ccm ohne hämolytische Wirkung blieben.

Die Blutkörperchen des Huhns sind den Säuren gegenüber widerstandsfähiger als die des Meerschweinchens.

Blutserum ist unter normalen Bedingungen mehr oder weniger konstant alkalisch. Zur Prüfung der Wirkung einer Säure auf ihre komplementäre Fähigkeit muß die Änderung in der Reaktion beachtet werden. So wurde die Alkalinität eines angewendeten Serums jedesmal durch Titration festgestellt, bevor Säure hinzugefügt wurde. Auf diese Weise war es möglich, die Beziehungen zwischen komplementärer Wirkung und Reaktion des Serums zu erforschen. Es zeigte sich, daß beim normalen Hundeserum die Alkalinität zwischen $^1/_{45}$ und $^1/_{55}$-n bei Prüfung mit einer zweibasischen Säure und Lackmuspapier schwankte. Eine Mischung gleicher Teile von $^1/_{40}$-n Essigsäure und Serum zeigte schwach saure Reaktion.

Die Beziehungen zwischen Reaktion und komplementärer Wirkung des normalen Hundeserums und Meerschweinchenserums sind aus Tabelle I zu ersehen.

Der angegebene Versuch zeigt, daß Komplemente in diesen Serums noch aktiv sind, nachdem die vorhandene Alkalinität durch Neutralisation mit einer Säure beseitigt ist. Er zeigt ferner, daß ein geringes Überwiegen der Säure über die Neutralität hinaus stufenweise eine Verminderung der Wirksamkeit der Komplemente und endlich ihr vollständiges Verschwinden bewirkt. Die Inaktivierung von Komplementärserums durch Säuren ist von dem Verbrauch einer gewissen Menge von Säure begleitet. $^4/_{10}$ ccm von $^1/_{40}$ n-

Essigsäure sind mehr als hinreichend, um die Blutkörperchen in obiger Mischung zu lösen, wenn gleichzeitig kein Serum vorhanden ist. Es sieht so aus, als sei die Inaktivierung des Komplements eng mit dem Verschwinden von Säure verknüpft. Wenn Säure von den Proteinen des Serums aufgenommen worden ist, so wird ihre Anwesenheit durch die Blutkörperchen festgestellt. Dieses gleichzeitige Unwirksamwerden von Säure und Komplement ist vielleicht die Folge der Entstehung einer unwirksamen Verbindung dieser beiden Stoffe. Man mag gegenüber dieser Annahme deswegen Einwände erheben, weil das 30 Minuten lang auf 56° C erhitzte Serum ebenso antihämolytisch gegen Säuren wirkt, aber dieser Einwand ist unbegründet, da die Inaktivierung des Serums bei dieser Temperatur nicht auf Zerstörung des Komplements zu beruhen braucht.

Tabelle I.

Menge der Essigsäure $^1/_{40}$-n	Hundeserum 0,3 ccm		Meerschweinchenserum 0,3 ccm (Komplement)	
	Reaktion der Mischung	Hämolytische Wirkung der Mischung auf 2,5 ccm 5 proz. Meerschweinchen-Blutkörperchen	Reaktion der Mischung	Hämolytische Wirkung des Gemisches +0,1 ccm Antischafserum pro Röhrchen auf 2,5 ccm 5 proz. Schafblutkörperchen
0,6	sauer	mäßige Hämolyse	sauer	mäßige Hämolyse
0,5	„	leichte Hämolyse	„	keine Hämolyse
0,4	„	keine Hämolyse	„	„ „
0,3	schwach sauer	mäßige Hämolyse	neutral	c. Hämolyse (verzög.)
0,25	schw. alkalisch	c. Hämolyse (verzg.)	schw. alkalisch	„ „ „
0,2	alkalisch	„ „ „	mäßig „	„ „ „
0,15	„	„ „ „	alkalisch	„ „ „
0,1	„	„ „ „	„	„ „ „
0,07	„	„ „ „	„	„ „ „
0,05	„	„ „ „	„	„ „ „
0	„	„ „ „	„	„ „ „

Wenn wir als Erklärung die fermentartige Natur des Komplements annehmen, so würde der Wechsel in der Reaktion durch überschüssige Säure eine Deutung für die Inaktivierung des Serums abgeben. Aber eine derartige Annahme sollte möglichst so lange vermieden werden, als die geringste Hoffnung besteht, die Erscheinung auf einfachere Weise zu erklären. Wärmeunbeständigkeit und andere Eigenschaften, die allen sogenannten

Fermenten gemeinsam sind, müssen insoweit aufgegeben werden, als sie die Labilität dieser Körper betreffen, und schärfere Beobachtungen sollte man über die Rolle jener Stoffe anstellen, welche zusammen mit den wirklichen aktiven Bestandteilen in dem Ausgangsmaterial vorhanden sind.

Die inaktivierende Wirkung stellte sich als gemeinsame Eigenschaft der Säuren heraus, wenn auch von Phosphorsäure sowie von Glycerinphosphorsäure verhältnismäßig größere Dosen als von den anderen verbraucht wurden. Harnsäure besitzt nur schwach hemmende Kraft.

Inaktivierung von Komplementen durch Alkalien.

Die Methode war im wesentlichen dieselbe wie bei den Experimenten mit Säuren. Verwendet wurden die Hydroxyde von Ammonium, Natrium, Magnesium, Calcium und Barium in $^1/_{40}$ n-Lösung.

Die Lösungen wurden in 0,9 prozentiger Salzlösung bereitet.

Die hämolytische Kraft dieser Alkalien war ungefähr die gleiche, abgesehen davon, daß die Wirkung der verschiedenen Alkalien mit verschiedener Schnelligkeit eintrat. $^5/_{10}$ ccm der $^1/_{40}$ n-Lösung aller Alkalien außer Ammoniak bewirkten vollständige Hämolyse innerhalb 2 Stunden, während dieselbe Wirkung durch 1 ccm Ammoniaklösung erfolgte. Die Blutkörperchen der Schafe zeigten gegenüber Alkalien größere Widerstandskraft und erforderten 0,7 ccm zur vollständigen Hämolyse. Nachdem die hämolytische Kraft dieser Alkalien geprüft worden war, wurde ihre Wirkung auf die komplementäre Eigenschaft von Hundeserum und Meerschweinchenserum untersucht. Die Mischung wurde während 15 Minuten bei 37° C gehalten, dann wurden Blutkörperchen oder Blutkörperchen plus Amboceptoren hinzugefügt.

Aus Tabelle II ist zu ersehen, daß durch Hinzufügung von geeigneten Mengen verschiedenartiger Alkalien die komplementäre Eigenschaft des Serums verloren geht oder an Stärke einbüßt. Ammoniumhydroxyd bewirkte die sicherste, Calciumhydrat dagegen die geringste Hemmung. Natronlauge wirkt für eine bestimmte Zeit hemmend, nach deren Verlauf schließlich Hämolyse erfolgt. Es muß bemerkt werden, daß die hämolytische Wirkung dieser Alkalien gleichzeitig mit der komplementären Eigenschaft verschwindet. Wie bereits gezeigt, werden die Komplemente durch

Säuren inaktiviert, und nun sehen wir, daß Alkalien auch inaktivierend wirken. Nehmen wir an, Komplemente seien Fermente, so läßt sich das Phänomen der Inaktivierung ohne Schwierigkeit erklären, indem wir diese einer ungünstigen Reaktion zuschreiben können, die im Milieu durch die Chemikalien hervorgerufen wird. Tatsächlich ist gegen die Annahme, daß Komplemente salzartige Körper seien, in denen der basische oder saure Rest durch verschiedenartige Säuren oder Alkalien ersetzt werden könnte, nichts einzuwenden. Eine solche Umsetzung mag wirklich die Ursache der Inaktivierung sein. Daß die Hemmung der komplementären Wirkung durch verschiedenartige Säuren oder Alkalien nicht der Zunahme der Salzkonzentration in der Flüssigkeit oder der Bildung gewisser Verbindungen zuzuschreiben ist, die sich aus der Wechselwirkung zwischen den eingeführten Säuren und den vorhandenen Alkalien ergibt, ist durch entsprechende Experimente bewiesen worden.

Tabelle II.

Menge der alkalischen Flüssigkeit	Hundesrum 0,5 ccm			Meerschweinchenserum 0,3 ccm (Komplement)		
	Hämolytische Wirkung der Mischung auf 2,5 ccm 5proz. Meerschweinchen-Blutkörperchen			Hämolytische Wirkung des Gemisches +0,1 ccm Antischafserum pro Röhrchen auf 2,5 ccm 5proz. Schafblutkörperchen		
	$^1/_{40}$ n-Ammoniak	$^1/_{40}$ n-Natronlauge	$^1/_{80}$ n-Calciumhydrat	$^1/_{40}$ n-Ammoniak	$^1/_{40}$ n-Natronlauge	$^1/_{80}$ n-Calciumhydrat
1	keine Häm.	c. Hämolyse	c. Hämolyse	keine Häm.	c. Hämolyse	c. Hämolyse
0,8	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
0,7	„ „	starke Häm.	starke Häm.	„ „	„ „	„ „
0,6	„ „	schw. Häm.	„ „	„ „	„ „	„ „
0,5	mäßigeHäm.	keine Häm.	mäßigeHäm.	„ „	schw. Häm.	starke Häm.
0,4	c. Hämolyse	„ „	schw. Häm.	c. Hämolyse	keine Häm.	„ „
0,35	„ „	„ „	„ „	„ „	schw. Häm.	schw. Häm.
0,25	„ „	schw. Häm.	starke Häm.	„ „	mäßigeHäm.	starke Häm.
0,2	„ „	c. Hämolyse	c. Hämolyse	„ „	c. Hämolyse	c. Hämolyse
0,15	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
0,1	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „
0	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „	„ „

Der nächste Schritt war, Gewißheit darüber zu erlangen, ob bestimmte Salze die komplementäre Wirkung des Serums hemmen. Das war wegen der gegebenen Möglichkeit wichtig, die engeren Beziehungen zwischen der Inaktivierung von Komplementen und

der chemischen Struktur gewisser antikomplementärer Substanzen zu studieren. Bei Annahme, daß die Komplemente von salzartiger Natur sind, müßten wir natürlich erwarten, daß gewisse Salze auf Komplemente einwirken und andere nicht, gemäß der Affinität der diese Salze zusammensetzenden Radikale. Eine diesbezügliche Untersuchung ist darum für die Erforschung der chemischen Struktur der Komplemente von großer Bedeutung.

Inaktivierung der Komplemente durch Salze.

Daß verschiedene Elektrolyte die Komplemente unwirksam machen können, ist durch Hektoen[1]) und Manwaring[2]) gezeigt worden. Beide fassen die Erscheinung als einen chemischen Vorgang auf. Über die Wirkung von Säuren und Alkalien haben sie keine systematische Untersuchung angestellt, obgleich sie den Kationen eine wichtige Rolle bei der Inaktivierung von Komplementen zuschreiben. Während die Wirkung der Säuren und Alkalien keine bestimmte Beeinflussung der alkalischen oder sauren Komponente der Komplemente zu erkennen gibt, dürfte die Reaktion zwischen verschiedenen Salzen und Komplementen einen ziemlich genauen Anhalt abgeben, nach dem die Affinität des betreffenden Radikals in letzterem berechnet werden kann.

Die Versuche mit Säuren haben uns schon gelehrt, daß Harnsäure nicht imstande ist, das hypothetische Säureradikal der Komplemente zu substituieren, während die andern Säuren, die meisten mineralischen und organischen Säuren mit einbegriffen, die Komplemente zu spalten und inaktive Körper zu bilden scheinen.

Die meisten freien Alkalien, besonders Natronlauge, substituieren das hypothetische Basenradikal des Komplements und führen zur Bildung entweder einer schwächeren oder beinahe unwirksamen Verbindung oder einer Verbindung, deren Aktivität in einem Serumproteine enthaltenden Medium aufgehoben ist.

A. Wirkung von Salzen, die aus starker Base und starker Säure zusammengesetzt sind.

Chloride, Sulfate oder Nitrate von Kalium und Natrium sind nicht antikomplementär, wenn nicht die Konzentration

[1]) Hektoen, Trans. of the Chicago Path. Society 5, 303, 1903.
[2]) Manwaring, Journ. of Infections deseases 1, 112, 1904.

stärker als einfach normal ist, in welchem Falle die Hämolyse gänzlich oder teilweise aufgehoben werden kann. Die Wirkung ist eine physikalische und keine chemische. Daraus kann man schließen, daß der saure oder basische Rest der Komplemente zu schwach ist, einen der Bestandteile des erwähnten Salzes abzuspalten. Bei Natriumsulfat läßt sich mehr oder weniger eine Hemmung in der Hämolyse beobachten.

B. Wirkung von Salzen, die aus schwacher Base und starker Säure bestehen.

Von den unter diese Rubrik gehörenden Substanzen untersuchte ich die Chloride, Nitrate, Sulfate, Phosphate, Acetate, Oxalate und Citrate von Ammonium, Neurin, Magnesium, Calcium und Barium. Die Ca- und Ba-Salze bewirkten, unabhängig von ihrer Löslichkeit, vollständige Inaktivierung der Komplemente, wenn sie in einer Konzentration von $^1/_{20}$-n zur Verwendung kamen. Magnesiumsalze wirken mehr oder weniger hemmend, doch kann Hämolyse nach mehrstündigem Verweilen im Brutschrank erfolgen. Ammonium- und Neurinsalze besitzen keine inaktivierenden Eigenschaften.

Hier haben wir einige neue Tatsachen gewonnen. Es findet eine chemische Wechselwirkung zwischen Komplementen und einigen Erdalkalisalzen starker Säuren statt, und keine Umzetzung erfolgt mit Ammonium- und Neurinsalzen. Der Grund dieser Verschiedenheiten kann in der Tatsache gesucht werden, daß das basische Radikal des Komplements ungefähr dieselbe Affinität wie Ammonium oder Neurin besitzt, jedoch vielleicht eine stärkere gegenüber starken mineralischen oder organischen Säuren als gegenüber dem eigenen Säureradikal. Als Ausdruck dieser Verschiedenheit der Affinitäten würde die Bildung eines Calcium- oder Bariumsalzes des Komplementen und die Bildung eines Salzes zwischen einer starken Säure und dem basischen Rest des Komplements erfolgen. In diesem Falle sind die Produkte nicht imstande, Amboceptoren zu aktivieren, daher tritt auch keine Hämolyse ein. Diese Erscheinung läßt sich leicht durch zwei chemisch charakterisierte Körper hervorrufen. Wenn Natriumcarbonat mit Calciumchlorid gemischt wird, tritt Bildung von unlöslichem Calciumcarbonat und Chlor-

natrium ein, und die vorhandene hämolytische Kraft der Soda wird aus der Mischung verschwinden.

C. Wirkung von Salzen, die aus starker Säure und schwacher Base bestehen.

Als schwache Säuren bezeichnet man die höheren Fettsäuren und die Kohlensäure. Das Carbonat und Bicarbonat des Natriums kommen hier in erster Reihe in Betracht. Natriumsalze von Stearin-, Palmitin- und Ölsäure sind hämolytisch befunden worden und ihre Wirkung auf Komplemente ist eine beschleunigende anstatt hemmende. Auf diese Besonderheit werde ich an anderer Stelle zurückkommen.

Soda ist an sich hämolytisch und verursacht in ganz minimalen Dosen nur leichte Hemmung. Natriumbicarbonat wirkt ausgesprochen inaktivierend, vielleicht weil es ein Hydroxylion im Molekül besitzt. Tabelle III zeigt das Resultat.

Tabelle III.

Menge der	2,5 ccm 5proz. Aufschwemmung von Meerschweinchen-Blutkörperchen			
	Plus $^1/_{40}$ n-Natriumcarbonatlösung	Plus $^1/_{40}$ n-Natriumcarbonatlösung und Hundeserum 0,5 ccm	Plus $^1/_{40}$ n-Natriumbicarbonatlösung	Plus $^1/_{40}$ n-Natriumbicarbonatlösung und Hundeserum 0,5 ccm
1	keine Häm.	Teilweise Häm.	keine Hämolyse	Partielle Hämol.
0,7		c. Häm.(st.verz.)		c. Häm. (st. verz.)
0,5		c.H.(schw.verz.)		" " " "
0,3		" " " "		c. H. (schw. verz.)
0,2		" " " "		" " " "
0		" " " "		" " " "

D. Wirkung von Salzen zwischen schwacher Base und schwacher Säure.

Ich prüfte das Carbonat, Stearat und Oleat von Ammonium, Neurin, Magnesium, Calcium und Barium. Von diesen waren alle Carbonate von alkalischen Erden und des Ammoniums in $^1/_{10}$ n-Lösung (in 0,9% NaCl) gebracht, die Seifen hingegen in der Regel in $^1/_{100}$ n-Lösungen.

Die Resultate waren eindeutig insofern, als alle Carbonate, die in Mengen von 2 ccm (bei 2,5 ccm Totalvolumen) angewandt

waren, die Hämolyse nicht deutlich zu hemmen vermochten. Andererseits wirkten verschiedene Seifen ungleichartig. Kurz, alle Erdalkaliseifen, ausgenommen Magnesiumseife, sind indifferent gegenüber der Einwirkung von Komplementen, während Magnesiumseife eine leicht beschleunigende Wirkung ausübt. Die Inaktivität der Calcium- und Bariumseifen mag ihrer Unlöslichkeit in dem salzhaltigen Medium zugeschrieben werden. Gewisse lösliche Seifen, z. B. Natrium-, Ammonium- und Neurinoleat, haben keine antihämolytische Eigenschaft in Mengen, die selber nicht mehr hämolytisch sind.

Sie erhöhen im Gegenteil die komplementäre Eigenschaft eines gegebenen Serums. Bemerkt sei, daß die löslichen Ölseifen in hohem Maße in einer proteinfreien Flüssigkeit hämolytisch sind. Die Erklärung für diese Erhöhung der komplementären Kraft des Serums bei Hinzufügung von löslichen Ölseifen ist in einer besonderen Abhandlung[1]) gegeben worden.

Regeneration von Komplementen, die einmal durch Chemikalien inaktiviert waren.

Die wahrscheinlich chemische Natur und die Stabilität der Komplemente ist durch die vorangegangenen Versuche dargetan. Jetzt bleibt noch zu untersuchen, ob sie nach Inaktivierung der komplementären Substanzen mittels gewisser Säuren, Alkalien und Salzen wieder aktiv gemacht werden können. Wo es sich um Säuren oder Alkalien handelt, würde einfache Neutralisation zu diesem Zweck genügen, doch bei Salzen ist eine Umkehrung der Reaktion notwendig, vorausgesetzt, daß die hier über die Struktur der Komplemente vertretene Ansicht zutreffend ist.

A. Regeneration der durch Säure inaktivierten Komplemente.

Es ergab sich, daß 0,6 ccm einer $^1/_{40}$ n-Lösung einer einbasischen Säure, 0,4 ccm einer zweibasischen, 0,3 ccm einer dreibasischen und 0,2 ccm einer vierbasischen Säure, ausgenommen gewisse höhere Fett-, Acryl- oder Carbonsäuren, innerhalb einer

---

[1]) H. Noguchi, On certain chemical complementary Substances, Proc. of the Soc. of Exper. biology and Medicine New York 4, 45, 1907.

halben Stunde bei 37° C eine Inaktivierung von 0,5 ccm frischen wirksamen Hundeserums hervorrufen. HCl, HNO_3, H_2SO_4, H_3PO_4, Essig-, Propion-, Milch-, Butter-, Oxybutter-, Oxal-, Wein-, Citronen-, Malein- und Citraconsäure ergaben alle dasselbe Resultat. Um zu sehen, ob die durch diese Säuren inaktiv gemachten Komplemente wieder zur Aktivität gebracht werden können, wurden die Säuren genau mit Natronlauge neutralisiert. Das Serum ließ man nach der Neutralisation 15 Minuten bei 37° C stehen und fügte dann eine 5prozentige Aufschwemmung von Schafs- oder Meerschweinchenblutkörperchen hinzu. Als Ergebnis zeigte sich, daß diejenigen Komplemente, die zuvor durch Propion-, Malein-, Wein- und Citraconensäuren inaktiviert worden waren, gleich nach der Neutralisation ihre ursprüngliche Aktivität wieder erlangen. Das mit Essigsäure, Oxalsäure und Buttersäuren behandelte Serum erlangt sie weniger vollständig zurück, als dies bei den zuerst erwähnten Säuren der Fall war. Die durch mineralische Säuren hervorgerufene Inaktivierung ist ausgezeichnet durch die langsame Rückkehr der komplementären Wirkung nach Neutralisation dieser Säuren durch Alkali.

Ammoniak ist gleichfalls imstande, die Wirkung der Komplemente wieder herzustellen, doch nicht in so vollkommenem Maße wie Natronlauge. Alle Mineralsäuren, die stärker als einfach normal sind, führen dauernde Inaktivität der Komplemente herbei.

B. Regeneration der durch Alkalien inaktivierten Komplemente.

Im allgemeinen gelingt die Regeneration eines Komplements, das durch Alkalien inaktiviert wurde, schwieriger und weniger sicher, als wenn es mit Säuren behandelt worden war. Die vollkommenste Wiederherstellung erzielte man, wenn die Alkalien mit Essig- oder Propionsäure neutralisiert wurden. Salzsäure gab oft negative Resultate.

C. Regeneration von Komplementen, die durch Salze inaktiviert waren.

Manwaring[1]) hat schon beobachtet, daß Komplemente, die durch gewisse Salze inaktiviert wurden, dadurch, daß man

[1]) a. a. O.

sie vom Fällungsmittel befreite, wieder aktiv gemacht werden können.

Bei meiner Untersuchung fand ich, daß das durch Ca oder Ba (in Form von Chlorid, Nitrat, Sulfat oder Acetat) inaktivierte Serum seine komplementäre Eigenschaft wieder erlangte, wenn eine genügende Menge Natriumcarbonat hinzugefügt wurde. Der Grad der Aktivität der so behandelten Komplemente wird immer unterhalb der ursprünglichen Höhe gefunden. Das teilweise regenerierte Serum wird durch Erwärmung auf 56° C wieder inaktiv gemacht.

Zusammenfassung.

Jede Säure, die stärkere Affinität als Kohlensäure und die höheren Fett- oder Acrylsäuren besitzt, inaktiviert Komplemente in einer Konzentration von ungefähr $^1/_{40}$-n bei zweibasischen Säuren, wenn diese einer gleichen Menge Serum zugesetzt wird. In gleichem Grade, wie die Wertigkeit der Säure zunimmt, verringert sich die erforderliche Menge. Kohlensäure sowie einige höhere Fettsäuren bewirken keine Inaktivierung.

Verschiedene Alkalien inaktivieren Komplemente, wenn sie in einer Konzentration von ungefähr $^1/_{80}$—$^1/_{40}$-n vorhanden sind, wechselnd mit der Natur des verwendeten Alkalis. Natronlauge wirkt schnell, doch ist die Hemmung, die sie verursacht, weniger ausgesprochen als die durch Ammoniak, von dem eine größere Menge als von ersterer nötig ist. Calciumhydroxyd zeigt die geringste Wirkung.

Salze von starken Säuren und starken Basen wirken nicht hemmend, außer wenn ihre Konzentration $^1/_1$-n nahezu erreicht; in $^1/_8$ n-Lösung wirken sie auf ein Komplement nicht inaktivierend. Salze starker Säuren und schwacher Basen und Salze schwacher Säuren und starker Basen inaktivieren in $^1/_{10}$-n oder sogar in schwächeren Lösungen. Ca- und Ba-Salze haben die stärkste hemmende Wirkung auf Komplemente. Salze von schwachen Säuren und schwachen Basen besitzen keine inaktivierende Eigenschaft. Gewisse lösliche Ölseifen, welche an sich in einem eiweißfreien Medium erheblich hämolytisch sind, erhöhen die Wirkung von Komplementen bedeutend, wenn sie in ganz minimalen Dosen dem Serum zugefügt werden.

Die Wirkung von Komplementen, die durch Hinzufügung entsprechender Mengen von Säuren, Alkalien und Salzen aufgehoben oder vermindert worden ist, kann gänzlich oder teilweise durch Entfernung dieser Zusätze mittels Neutralisation oder Fällung wieder hergestellt werden.

Die regenerierten Komplemente können so aktiv wie vorher oder auch weit weniger wirksam als ursprünglich sein. Mineralsäuren neigen zur Erzeugung dauernder Unwirksamkeit, wenn sie in einer ca. $^1/_1$ n-Lösung angewandt werden. Die regenerierten Komplemente werden bei Erwärmung auf 56° C inaktiv, wenn sie eine halbe Stunde andauert. Die Komplemente sind hinsichtlich des Einflusses der Reaktion des Milieus auf ihre Wirkungsweise gewissen Fermenten zu vergleichen. Und doch scheinen sie besser mit aus schwacher Säure und schwacher Base bestehenden Salzen als mit den Fermenten in Parallele gesetzt zu werden. Das sind einige, wenn auch nicht ausreichende Gründe für die Annahme, daß Komplemente Salze der Ölsäure oder höherer Fettsäuren mit organischen Basen sein könnten.

Über eine lipolytische Form der Hämolyse.[1])

Von

Hideyo Noguchi.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, N.-Y.)

(Eingegangen am 14. August 1907)

Die lypolitische Form der Hämolyse ist besonders wegen ihrer biologischen Stellung unter den verschiedenen Arten der Hämolyse von Interesse. Säuren, Alkalien, gewisse Salze und Glucoside zerstören die Blutkörperchen direkt und sind unfähig, auch bei wiederholter Injektion Antikörperbildung im Organismus anzuregen. Taurocholsaures Natrium sowie cholsaures Natrium scheinen jedoch eine Ausnahme zu bilden, da Rist und Ribadeau-Dumas[2]) sowie Nicolle[3]) eine Zunahme der antihämolytischen und antitoxischen Eigenschaften des Serums von Tieren beobachteten, die mit jenen Salzen vorbehandelt war. Verschiedene Hämolysine bakterieller Herkunft zerstören die Zellen in ähnlicher Weise, aber die eigentliche Natur des Lösungsvorganges ist unbekannt. Einige von ihnen sind hitzebeständig und vermutlich von ziemlich einfacher Struktur, während ein anderer Teil mehr den Fermenten ähnelt, insofern sie termolabil, mit der Zeit leicht zerstörbar und im trockenen Zustande beständig sind. Diesen nahe steht eine andere Klasse von Hämolysinen, die allein in Gegenwart einer besonderen zweiten Komponente wirksam sind, welch letztere

---

[1]) Read before the Soc. for Exper. Biol. and Med., 1907, May 20, New York.

[2]) Rist et Ribadeau-Dumas, Essai d'immunisation du lapin contre l'action hémolytique du taurocholate de soude. Compt. rend. d. l. Soc. d. Biol. **55**, 1519, 1903.

[3]) Nicolle, Séro-immunité vis-à-vis du „Choléate de soude". Annales de l'Inst. Pasteur **21**, 26, 1907.

allein inaktiv ist. Diese komplexe Gruppe umfaßt die Serumhämolysine und die Schlangengifthämolysine. Die Wirkung dieser komplexen Hämolysine ist selektiv oder spezifisch, namentlich dann, wenn das Serum auf immunisatorischem Wege bereitet ist. Die Spezifität beruht auf der Gegenwart der sogenannten Zwischenkörper oder sensibilisierenden Substanzen, die eine größere Resistenz gegen Hitze haben als die anderen nicht spezifischen Komponenten, die sogenannten Komplemente oder Alexine. Den Zwischenkörpern, besonders Paul Ehrlichs Amboceptoren, entspricht das Auftreten spezifischer Antikörper bei Einführung in einen fremden Organismus, obgleich die Bildung der Antikomplemente im Tierkörper streng genommen eine Hypothese ist. Auf alle Fälle macht die Bildung spezifischer Präcipitine im Immunserum den absolut sicheren Beweis für die Existenz der Antikomplemente unmöglich. Die chemische Natur der Amboceptoren oder Immunkörper ist noch unbekannt. Wir wissen nur, daß sie durch Erhitzung auf 75° C oder höher ihre Wirksamkeit verlieren, während die Giftamboceptoren sogar bei Siedetemperatur beständig sind. L. von Liebermann[1]) hat in einer jüngst erschienenen, nur wenig später als eine Mitteilung ähnlichen Inhalts von Noguchi[2]) veröffentlichten Arbeit über Komplemente gezeigt, daß Ölsäure in Gegenwart bestimmter Seifen als Immunkörper fungieren kann. Bezüglich der Komplemente meint Noguchi (l. c.), daß bestimmte lösliche Seifen, namentlich Ölseifen, unter bestimmten Bedingungen alle wesentlichen Eigenschaften der Komplemente erlangen. Er gibt jedoch zu, daß gewisse Unterschiede zwischen den natürlichen und künstlichen Komplementen bestehen. Kyes' allbekannte Arbeiten über die Bildung der Giftlecithide, denen sich Morgenroths und Karpis[3]) Untersuchung über das Toxolecithid des Bienengiftes anschließt, verbreiteten etwas Licht über die hämolytischen Vorgänge bei diesen Giften. Während Kyes annimmt, daß das Lecithin im Blut geradezu für die Gifthämolyse verantwortlich

---

[1]) v. Liebermann, Über Hämoagglutination und Hämatolyse. Diese Zeitschr. **4**, 25, 1907.

[2]) Noguchi, On certain chemical complementary substances. Proc. of Soc. Eexper. Biol. and Med. **4**, 45, 1907.

[3]) Morgenroth und Carpi, Über ein Toxolecithid des Bienengiftes. Berl. klin. Wochenschr. **43**, 1424, 1906.

zu machen ist, betont Noguchi[1]), daß gewisse Fettsäuren und lösliche Seifen für die Hämolyse mehr in Betracht kommen als das Lecithin unter gewöhnlichen Verhältnissen. Von großem Interesse ist die Entdeckung Neuberg und Rosenberg's[2]) vom Vorkommen eines ausgesprochenen fettspaltenden Agens in verschiedenen Giften und Phytotoxinen, obgleich noch keine bestimmte Beziehung zwischen hämolytischer und lipolytischer Fähigkeit selbst hergestellt ist. Neuberg und Reicher[3]) fanden, daß gewisse antibakterielle Immunsera ein größeres Fettspaltungsvermögen als Normalsera der entsprechenden Spezies besitzen. Die Untersuchungen von Neuberg, Rosenberg und Reicher machen es in hohem Grade wahrscheinlich, daß gewisse Beziehungen zwischen Lipolyse und Hämolyse (und sogar zwischen Bakteriolyse) bei bestimmten Substanzen oder Seris bestehen. Längere Zeit vor dem Erscheinen dieser Arbeiten habe ich über die Bedeutung der Hämolyse als eine Folge von Lipolyse gearbeitet. Vor mehreren Jahren hatte ich beobachtet, daß Ölsäure zehnmal stärker hämolytisch wirkt als gewöhnliche Mineralsäuren oder normale Fettsäuren[4]), und ich dachte an die Möglichkeit einer lipolytischen Form der Hämolyse. Da ich jedoch ein altes fettspaltendes Ferment (Steapsin Kahlbaum) benutzt hatte, erhielt ich keine Lipolyse. Jetzt wendete ich meine Aufmerksamkeit der Pankreaslipase zu und erhielt nun ein positives Resultat, dessen Wiedergabe den Gegenstand der vorliegenden Mitteilung bildet.

In der Lipase habe ich nun eine weitere Form eines komplexen Hämolysins gefunden. Wenn man die Lipase durch Alkoholfällung einer rohen Pankreasemulsion darstellt und sie dann durch Ätherextraktion von Fett befreit, so ist sie hämolytisch unwirksam. Wenn man sie aber dann mit einem an sich nicht hämolytischen höheren Neutralfett zusammenbringt, so tritt vollständige Hämolyse ein. Lipolyse und Hämolyse gehen Hand in Hand miteinander.

---

[1]) Noguchi, On extracellular and intracellular venom activators of the blood, with especial reference to lecithin and fatty acids and their compounds. Journ. of exper. Med. **9**, 436, 1907.

[2]) Neuberg und Rosenberg, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse I. Berl. klin. Wochenschr. **44**, 54, 1907.

[3]) Neuberg und Reicher, Lipolyse, Agglutination und Hämolyse II. Diese Zeitschr. **4**, 281, 1907.

[4]) Noguchi, On certain thermostabile venom activators. Journ. of exper. Med. **8**, 87, 1906.

In diesem Stadium ist die Hämolyse eine direkte Folge der Fettspaltung und auf die Wirkung freier Fettsäuren oder ihrer Verbindungen zurückzuführen.

Im folgenden möge eine kurze Wiedergabe meiner Versuche folgen.

Darstellung von Lipase.

Erste Methode. Frisches Hunde- oder Meerschweinchenpankreas wurde mit dem 20fachen Gewicht Wasser digeriert. Es wurde sodann koliert und mit dem mehrfachen Volumen Alkohol von 95% gefällt. Nach mehreren Stunden wurde der Niederschlag abfiltriert und auf einem Filter gesammelt, sodann mit Äther erschöpft und getrocknet.

Zweite Methode. Die Pankreasemulsion wurde in gleicher Weise wie bei Methode 1 hergestellt, dann aber mit gesättigter Uranylacetatlösung (20 : 100) gefällt. Der Niederschlag wurde auf einem Filter gesammelt, getrocknet und pulverisiert. Das Pulver wurde sorgfältig mit Äther extrahiert und von jeder Spur anhaftender Fettsubstanzen befreit. Das Pulver wurde dann vom anhaftenden Äther befreit und für die folgenden Versuche benutzt.

Neutralfette für die Lipolyse.

Ich prüfte die Wirkung meiner Lipase auf Äthylformiat, Äthylbutyrat, auf Butter, Akrolein, Tributyrin, Crotonöl, Trolein, Tripalmitin, Tristearin und auf die durch Ätherextraktion aus dem Fettgewebe und Mesenterium von Hund und Meerschwein gewonnenen Fette. Angesichts der anhaftenden hämolytischen Fähigkeit oder wegen der vollkommenen Unlöslichkeit wurden die meisten Ester, niederen Glyceride und das unlösliche Palmitin und Stearin für die scharfe Probe der Hämolyse als ungeeignet befunden.

Befriedigende Resultate erhält man mit Triolein, Butter und den Fettgemischen tierischer Herkunft.

Blutkörperchen für die Hämolyse.

Zur Untersuchung dienten gewaschene Blutkörperchen von Hund oder Meerschwein, und zwar in einer 5prozentigen Aufschwemmung.

Ausführung.

Das gesamte Volumen der Mischung, das die nötige Menge der Komponenten für den Versuch enthielt, betrug 2 ccm. Die Isotonie

wurde durch 0,9 prozentige Kochsalzlösung hergestellt. Die Einwirkungszeit betrug 4 Stunden bei 37° C, worauf der Umfang der Lipolyse oder Hämolyse festgestellt wurde.

Versuchsergebnisse.

Wenn man einen Tropfen Tirolein, tierischen Fettes oder geschmolzener Butter zu einer Suspension gewaschener Blutkörperchen eines der erwähnten Tiere bei Gegenwart einer ausreichenden Menge Lipase fügt — 1 ccm 5 prozentiger Emulsion des Pankreaspulvers —, so tritt vollständige Hämolyse ein. Weder Lipase noch Fett allein bringen sie hervor.

Lecithin kann in diesen Neutralfetten nicht vorhanden sein. So weit meine bisherigen Experimente reichen, zeigt sich, daß der Alkohol-Pankreasniederschlag Lecithin nicht in nennenswertem Maße spaltet. Ob bei Darstellung ohne Alkohol, wobei oft Hämolyse zu bemerken ist, lecithinspaltende Enzyme vorhanden sind, ist nicht untersucht. Es ist nicht gerade unwahrscheinlich, daß die Fermente, die Lecithin spalten, mit denen für phosphorfreie Glyceride nicht identisch sind. Ich fand, daß bei Darstellung ohne Alkohol das Präparat stärker fettspaltend wirkt als bei Anwendung von Alkohol. In einer Verdünnung, wo kein fettspaltendes Agens mehr nachweisbar ist, wirkt die ohne Alkohol dargestellte Lipase noch fettspaltend. Die anfangs neutrale Reaktion des Gemisches wird während der Einwirkung allmählich sauer. Der Grad der Acidität ist in der Regel nicht sehr stark, Dies kann jedoch leicht durch die Annahme erklärt werden, daß mit der Zeit die in Freiheit gesetzte Säure zum Teil durch die Alkalisalze neutralisiert wird, welche der Lipase von der Darstellung her anhaften oder die mit dem Serum eingeführt werden. Es wäre ein vollkommener Fehlschuß, allein infolge des geringen Grades der Acidität anzunehmen, daß die Hämolyse nicht durch die abgespaltene Fettsäuren verursacht wären. Wegen der gleichzeitigen Bildung von löslichen Seifen der Ölsäure tritt eine Verminderung der Acidität, aber eine Zunahme in Stärke und Schnelligkeit der Reaktion bis zur kompletten Hämolyse ein. An dieser Stelle sei bemerkt, daß Kyes' letzte Methode[1]) zur möglichst ergiebigen Darstellung von Kobralecithid in einer Entfernung der durch das

[1]) Kyes, Über die Lecithide des Schlangengiftes. Diese Zeitschr. 4, 101, 1907.

Gift aus dem Lecithinmolekül abgespaltenen Ölsäure und deren Neutralisation mit Natronlauge beruht. Nach wiederholter Schüttelung und Neutralisation wird der in Chloroform lösliche Anteil mit einer genau gemessenen Menge Salzsäure versetzt, wobei das Natrium der Ölsäure entzogen wird.

Diese letzte Vorsichtsmaßregel scheint besonders wichtig zu sein, insofern als Lecithid und Natriumoleat beide stark hämolytisch wirken und dieselben Löslichkeitsverhältnisse haben, zumal im unreinen Zustande.

Das Fettspaltungsvermögen des Pankreaspräparates verschwindet beim Erwärmen auf 60° C. Bei 56° findet bereits beträchtliche Schwächung statt. Andererseits kann Lipase im trocknen Zustand ohne Einbuße an ihrer Kraft auf 110° C erhitzt werden. Der Hämolyse, die durch Lipase und Fette hervorgerufen wird, fehlt die Spezifität.

Blutserum als Komplement für die lipolytische Hämolyse.

Das Serum von Hund und Meerschweinchen ist fähig, bei Gegenwart von Pankreaslipase Hämolyse zu bewirken. Serum vom Rind ist dazu weniger imstande, wahrscheinlich infolge der Gegenwart einer die freien Fettsäuren schnell neutralisierenden Substanz oder infolge der Armut an Oleinfetten. In den dazu geeigneten Fällen liefert das Serum Fette für die Hämolyse, und diese werden dabei gleichzeitig verseift.

Hemmung der lipolytischen Hämolyse durch bestimmte Salze.

Cyankalium und Fluornatrium heben in einer Verdünnung von 1 : 10 000 den Eintritt der Hämolyse auf. Das einmal gebildete hämolytische Agens ist kochbeständig und gegen Neutralisation mit Alkalihydroxyd oder Carbonat widerstandsfähig. Die Hydroxyde und Carbonate der Erdalkalien hemmen stark.

Beschleunigung der hämolytischen Lipolyse durch bestimmte Salze.

Bekannt ist die beschleunigende Wirkung der gallensauren Salze auf die Fettspaltung[1] u. [2]. Es lag nahe, den Einfluß

---

[1] Magnus, Die Wirkung synthetischer Gallensäuren auf die pankreatische Fettspaltung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 376, 1906.

[2] Loevenhart und Souder, On the effect of bile upon hydrolysis of esters by pancreatic juice. Journ. of biol. Chem. 2, 415, 1907.

dieser Salze auf die lipolytische Form der Hämolyse zu prüfen. Es ist festgestellt, daß taurocholsaures und glykocholsaures sowie cholsaures Natrium stark hämolytisch sind; wenn man sie jedoch in $^1/_{500}$ Normallösung anwendet, sind sie an sich nicht hämolytisch, aber imstande, den Eintritt der Hämolyse zu fördern. Mangansulfat gab weniger günstige Resultate.

Die lipolytische Form der Hämolyse ist, obgleich die chemische Seite der Frage einfach ist, nicht ohne Interesse im Hinblick auf die komplexen biologischen Hämolysine. Der vorliegende Fall ist vielleicht das erste Beispiel, in dem ein gut bekanntes, wenn nicht gut definiertes Ferment, wie die Lipase, in ursächlichen Zusammenhang mit den Erscheinungen der Hämolyse gebracht ist. Besondere Aufmerksamkeit verdient die Tatsache, daß eine auffallende Ähnlichkeit zwischen der lipolytischen Hämolyse und der gewöhnlichen durch „Amboceptoren-Komplemente" besteht, da in beiden Fällen zwei verschiedene Komponenten zusammenwirken. Lipase und Serumamboceptor sind beide, wenn auch in verschiedenem Grade, thermolabil. Beide geben zur immunisatorischen Bildung von Antikörpern Anlaß. In beiden Fällen unterstützen bestimmte Serumbestandteile ihre Wirkung auf die Blutkörperchen, obgleich die Komplementsubstanzen im einzelnen Falle sehr verschieden sein mögen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß das jüngst von Friedemann[1]) beschriebene komplexe Hämolysin aus Pankreassaft und Drüse teilweise mit der Pankreaslipase identisch ist. Ein anderer interessanter Gesichtspunkt ist der, daß zwei an sich unwirksame Substanzen durch Mischung aktiv werden, sowie der, daß die wichtigste Körperflüssigkeit, das Blut, eine hinreichende Menge Fett enthält, um nach Einwirkung von Pankreaslipase Blutkörperchen zu zerstören. Sollte Lipase durch Zufall oder unter pathologischen Verhältnissen in die Blutbahn gelangen, so besteht die Gefahr der lipolytischen Hämolyse; die Blutlipase, welche höhere Glyceride nicht spaltet, kommt hierfür nicht in Betracht.

---

[1]) Friedemann, Über ein komplexes Hämolysin der Bauchspeicheldrüse. Deutsche med. Wochenschr. **33**, 585, 1907.

Beeinflussung der Autolyse durch anorganische Kolloide.

II. Mitteilung.

Wirkung von einigen positiv geladenen Kolloiden sowie von kolloidalem Palladium, Arsentrisulfid und Mangandioxyd auf die Leberautolyse.

Von

Privatdozent Dr. **M. Ascoli** und stud. med. **G. Izar.**

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie der Kgl. Universität Pavia [Prof. L. Devoto].)

(Eingegangen am 14. August 1907.)

In einer früheren Mitteilung[1]) führten wir den Nachweis, daß der Zusatz geringfügiger Mengen kolloidalen Ag, Pt oder Au eine energische Beschleunigung der Leberautolyse hervorruft. Die gewonnenen Resultate forderten in mancher Beziehung zur Erweiterung der berührten Frage auf und veranlaßten uns, an die planmäßige Bearbeitung des Gegenstandes heranzutreten. Die folgenden Untersuchungen betreffen die Wirkung einiger elektrisch entgegengesetzt (positiv) geladener kolloidaler Lösungen (Ferrihydroxyd und Aluminiumhydroxyd) auf die Leberautolyse. Anhangsweise fügen wir die mit einigen weiteren auf chemischem Wege bereiteten negativ geladenen kolloidalen Lösungen (Arsentrisulfid, Mangandioxyd) sowie mit elektrisch hergestelltem kolloidalem Palladium angestellten Versuche hinzu.

Zur Feststellung und Bestimmung der stattgefundenen Autolyse hielten wir uns an die in der ersten Mitteilung befolgte Technik. In jeder Reihe kamen immer je 20 g ein und desselben Leberbreies auf jeden Versuch; die in Spalte 3 angegebenen Mengen der kolloidalen Stammlösungen wurden vor dem Zusatze zum Leberbrei mit destilliertem H_2O auf das gleiche Volumen von 50 ccm gebracht. Vergleichsweise wurde in jeder Reihe ein Parallelversuch mit kolloidalem Silber (ungefähr in der nach den

---

[1]) Diese Zeitschr. 5, 394, 1907; vgl. auch Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 4.

früheren Erfahrungen als wirksamsten bekannten Menge) angestellt.

Kolloidales Ferrihydroxyd [$Fe(OH)_3$].

Es wurden drei verschiedene Präparate benutzt. Nr. I stellten wir aus essigsaurem Eisenoxyd nach Péan de S. Gilles[1]) her; Eisengehalt (Bestimmung als Eisenoxyd) = 1,127% = 2,11534% $Fe(OH)_3$ = 0,20408 Mol pro Liter, Acidität = 0,21666% HCl. Nr. II (bereitet nach Krecke[1])) enthielt 0,927% Fe = 1,77115% $Fe(OH)_3$ = 0,1666 Mol pro Liter, Acidität = 0,2004% HCl. Präparat Nr. III bezogen wir im Handel: Eisengehalt = 1,630% = 3,11444% $Fe(OH)_3$ = 0,2941 Mol pro Liter. Die Präparate wurden der Dialyse gegen destilliertes Wasser unterzogen, bis sich letzteres säurefrei erwies.

Tabelle I.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	4,20 4,48
2	120	—	—	16,80 17,36
3	120	Ag 20	—	21,98 22,40
4	120	$Fe(OH)_3$ 0,01 Nr. III	0,163	20,02 20,30
5	120	„ 0,05	0,815	20,16 20,72
6	120	„ 0,1	1,630	20,86 21,28
7	120	„ 0,2	3,260	21,28 21,42
8	120	„ 0,5	8,150	21,56 21,56
9	120	„ 0,75	12,225	21,84 22,12
10	120	„ 1,00	16,300	18,20 17,64

[1]) Vgl. Lottermoser, Über anorganische Kolloide. Stuttgart 1901.

Tabelle II.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	9,38 9,94	Aus allen Proben wurden vor Unterbrechung der Autolyse aerob und anaerob Agarkulturen angelegt; mit Ausnahme von Nr. 2 und Nr. 9 (in welchen sich wenige Schimmelpilze entwickelten) erwiesen sich die übrigen als steril.
2	90	—	—	17,36 17,92	
3	90	Ag 20	—	30,38 30,80	
4	90	$Fe(OH)_3$ 0,10 Nr. III	1,630	20,44 20,72	
5	90	" 0,20	3,260	21,00 21,42	
6	90	" 0,30	4,890	23,80 23,94	
7	90	" 0,40	6,520	24,50 24,92	
8	90	" 0,50	8,150	25,06 25,76	
9	90	" 0,60	9,780	26,04 26,88	
10	90	" 0,70	11,410	26,60 26,88	
11	90	" 0,80	13,040	26,46 27,16	
12	90	" 0,90	14,670	20,30 20,58	
13	90	" 1,00	16,300	19,32 19,60	
14	90	—	—	17,40 17,00	mit 5,6 ccm HCl $^1/_{100}$N versetzt, entsprechend d. mit Phenolphthalein titrierten Acidität von Nr. 8.
15	90	—	—	17,70 17,90	mit 11,2 ccm HCl $^1/_{100}$N versetzt, entsprechend der Acidität v. Nr. 13.

Aus den in Tabellen I und II niedergelegten orientierenden Vorversuchen mit verschiedenem Zusatze von $Fe(OH)_3$ geht hervor, daß die Leberautolyse durch dasselbe energisch aktiviert wird[1]); bei wachsendem Zusatze erfährt auch die

[1]) Merkwürdigerweise besitzt nach den interessanten Untersuchungen von C. Foà (Accad. medic. di Torino, Sitzung vom 12. April 1907) das kolloidale $Fe(OH)_3$ weder oxydierende Eigenschaften, noch wirkt es auf Oxydasen beschleunigend.

Aktivierung eine Steigerung; wird eine bestimmte Grenze überschritten, so nimmt die Beschleunigung brüsk ab. Daß letztere jedenfalls nicht auf Rechnung der Acidität der kolloidalen Lösung zu stellen ist, geht aus Kontrollversuchen Nr. 14 und 15 (Tafel II), die durch HCl auf denselben Säuregrad gebracht wurden, hervor.

Tabelle III.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	6,72 7,28
2	96	—	—	22,40 22,82
3	96	Ag 20	—	33,80 34,44
4	96	$Fe(OH)_3$ 0,01 Nr. III	0,163	28,84 29,12
5	96	„ 0,02	0,328	29,40 29,68
6	96	„ 0,03	0,489	29,40 29,72
7	96	„ 0,04	0,652	29,68 29,96
8	96	„ 0,05	0,815	30,24 30,38
9	96	„ 0,10	1,630	30,66 30,80
10	96	„ 0,15	2,445	30,80 31,08
11	96	„ 0,50	8,150	32,52 32,66
12	96	„ 0,75	12,225	32,38 32,80
13	96	„ 1,00	16,300	verloren „
14	96	„ 1,5	24,450	22,26 22,40
15	96	„ 2,0	32,600	20,02 20,58
16	96	„ 2,5	40,750	17,22 17,50
17	96	$Fe(OH)_3$ 0,02	0,1854	27,44 28,00
18	96	Nr. II „ 1,0	9,27	32,94 32,94
19	96	$Fe(OH)_3$ 0,02 Nr. I	0,2254	30,80 30,90
20	96	„ 1,0	11,27	31,50 31,64

Aus allen Proben wurden vor Untersuchung der Autolyse aerob und anaerob Agar-Kulturen angelegt; mit Ausnahme von Nr. 2—19 (in welchen sich wenige Schimmelpilze entwickelten), erwiesen sich die übrigen als steril.

Tabelle IV.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	{ 4,20 4,76
2	—	—	—	{ 9,10 8,82
3	72	Ag 20	—	{ 15,40 15,68
4	72	$Fe(HO)_3$ 0,001 Nr. III	0,0163	{ 8,96 9,10
5	72	" 0,003	0,0489	{ 8,82 9,24
6	72	" 0,005	0,0815	{ 9,94 10,78
7	72	" 0,007	0,1141	{ 10,50 11,34
8	72	" 0,01	0,163	{ 12,04 12,04
9	72	" 0,50	8,150	{ 13,44 14,14
10	72	" 0,60	9,780	{ 14,28 14,70
11	72	" 0,70	11,410	{ 14,56 14,84
12	72	" 0,80	12,440	{ 14,96 14,84
13	72	" 0,90	14,670	{ 14,00 14,14
14	72	" 1,00	16,300	{ 12,18 12,32
15	72	" 1,10	17,930	{ 11,48 11,48
16	72	" 1,20	19,560	{ 11,06 10,92

In den in Tabellen III und IV angeführten Versuchen bezweckten wir, den Gang derAktivierung bei allmählich steigendem Zusatz der kolloidalen Lösung sowie mit minimalen und mit maximalen Mengen derselben näher zu verfolgen. Es erhellt, daß schon Spuren kolloidalen Ferrihydroxyds (ent-

sprechend $^1/_{10}$ mg Fe) eine deutliche Anfachung der Autolyse hervorzurufen imstande sind, und daß bei Heranziehung größerer Mengen die entgegengesetzte Erscheinung zutage tritt, indem an Stelle der Beschleunigung eine Hemmung der Autolyse tritt (vgl. auch Tab. VIII und IX). Daß an letzterer nicht die saure Reaktion Schuld trägt, geht aus Kontrollversuch Nr. 6 (Tabelle Va) hervor.

Außer diesem allgemeinen Verhalten, dem wir auch bei den übrigen untersuchten Kolloiden begegnen werden, wären diesen und den folgenden Tabellen mancherlei Einzelheiten zu entnehmen, in denen die verschiedenen geprüften Substanzen voneinander abweichen. Jedoch bezweifeln wir, ob denselben in Anbetracht der Verschiedenheit des Ausgangsmaterials (verschiedene Leberbreie) und der dadurch bedingten Ungleichartigkeit der Versuchsbedingungen, sowie ihrer Kompliziertheit überhaupt, allzu großer Wert beizumessen ist; wir ziehen es deshalb vor, auf ihre Hervorhebung und Besprechung vorderhand zu verzichten.

In Tabelle III ist die Wirksamkeit unserer drei Präparate kolloidalen Eisenhydroxyds vergleichsweise geprüft: es offenbarte sich mit allen die Beschleunigung der Autolyse, und zwar bei gleicher Fe-Menge ungefähr in gleichem Maße.

Tabelle V.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	7,14 7,42	
2	72	—	—	18,34 18,90	
3	72	Ag 20	—	26,60 27,16	
4	72	$Fe(OH)_3$ 0,5 Nr. III	8,15	24,78 25,20	
5	72	„ 1,0	16,30	20,58 21,28	
6	72	„ 0,5	8,15	22,40 21,70	$Fe(OH)_3$ 10 Minuten auf 120° im Autoklaven erhitzt (Farbe unverändert; kein Niederschlag).
7	72	„ 1,0	16,30	19,32 19,60	(wie 6)

Tabelle Va.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe resp. $Al_6O_{14}H_{10}$ Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	6,58 7,42	
2	60	—	—	20,02 19,88	
3	60	Ag 20	—	28,84 28,28	
4	60	$Fe(OH)_3$ 0,5	8,15	25,06 25,48	
5	60	„ 2,5	40,75	16,66 17,08	
6	60	—	—	20,16 20,58	mit 28 ccm HCl 1/100 N versetzt, entsprechend der Acidität von No. 5.
7	60	$Al_6O_{14}H_{10}$ 2,0	14,0	24,64 25,34	
8	60	„ 25	175,0	20,30 19,88	
9	60	„ 40	280,0	18,62 18,20	
10	60	„ 50	350,0	16,80 16,52	
11	60	—	—	20,44 19,74	mit 7,12 ccm norm. HCl versetzt entsprechend der Acidität von Nr. 8.
12	60	—	—	21,00 20,72	mit 14,25 ccm norm. HCl versetzt entsprechend der Acidität von Nr. 10.

In Tabelle V wurde der Einfluß des Erhitzens auf die Aktivität der kolloidalen Lösung untersucht. In Übereinstimmung mit der von Bredig festgestellten Verminderung der katalytischen Eigenschaften kolloidaler Metalle infolge Erhitzens, erscheint auch das erhitzte Eisenhydroxyd in seiner beschleunigenden Wirkung auf die Leberautolyse deutlich geschädigt.

Was den Grad der durch kolloidales Eisenhydroxyd erzielbaren Beschleunigung betrifft, so erreichte dieselbe im allgemeinen wohl ungefähr dieselbe Höhe, als es mit kolloidalem Silber der Fall war; in einem Teile der Versuche steht sie um weniges hinter derselben zurück (vgl. Tabellen II, VIII und IX).

Kolloidales Aluminiumhydroxyd ($Al_6O_{14}H_{10}$).

Dargestellt nach Schlumberger[1]). $Al_6O_{14}H_{10}$-Gehalt der Lösung = 0,7% = 0,01766 Mol. pro Liter. Acidität (nach stattgefundener Dialyse) = 1,04% HCl.

Wie man sieht (Tab. VI, VII), besitzt auch das kolloidale Aluminiumhydroxyd die Eigenschaft, die Leberautolyse beträchtlich anzufachen. Es wiederholt sich hier die Erscheinung, daß kleine Mengen die Autodigestion begünstigen, bei größeren die Aktivierung geringer ausfällt, allzu große die Autolyse selbst hemmen, ohne daß die Acidität der zugesetzten Lösung dabei im Spiele ist (vgl. Kontrollversuche Nr. 11, 12, Tabelle Va). Erhitzen beeinträchtigt die Wirksamkeit des kolloidalen Aluminiumhydroxyds ungefähr in demselben Maße, als es für das kolloidale Eisenhydroxyd der Fall ist.

Tabelle VI.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	$Al_6O_{14}H_{10}$-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	{ 6,16 6,30
2	90	—	—	{ 21,84 21,70
3	90	Ag 20	—	{ 28,42 28,70
4	90	$Cl_6O_{14}G_{10}$ „ 0,1	0,7	{ 21,70 21,84
5	90	„ 0,5	3,5	{ 23,00 23,14
6	90	„ 1	7,00	{ 26,60 26,04
7	90	„ 5	35,00	{ 25,90 25,34
8	90	„ 10	70,0	{ 25,06 24,50
9	90	„ 20	140,0	{ 20,30 20,16

[1]) Schlumberger, Bull. Soc. chim. de Paris **13**, 1895.

Tabelle VII.

Nummer	Versuchs-dauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	$Al_6O_{14}H_{10}$-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	72	—	—	7,14 7,42	
2	72	—	—	18,34 18,90	
3	72	Ag 20	—	26,60 27,16	
4	72	$Al_6O_{14}H_{10}$ 0,01	0,07	18,20 18,62	
5	72	„ 0,03	0,21	18,20 18,90	
6	72	„ 0,05	0,35	18,48 18,90	
7	72	„ 0,07	0,49	19,32 18,90	
8	72	„ 0,1	0,7	19,04 19,32	
9	72	„ 0,2	1,6	19,60 20,30	
10	72	„ 0,4	2,8	20,44 20,86	
11	72	„ 0,6	4,2	21,70 20,86	
12	72	„ 0,8	5,6	22,12 22,68	
13	72	„ 1,0	7,00	23,24 23,66	
14	72	„ 1,0	7,00	20,58 20,30	$Al_6O_{14}H_{10}$ 10 Minuten auf 120° in Autoklaven erhitzt (Farbe unverändert, kein Niederschlag).
15	72	„ 1,5	10,50	23,66 23,80	
16	72	„ 2,0	14,00	24,08 24,50	
17	72	„ 3,0	21,00	24,50 24,92	
18	72	„ 4,0	28,00	22,60 22,40	
19	72	„ 5,0	35,00	22,68 23,24	
20	72	„ 5,0	35,00	19,32 18,90	$Al_6O_{14}H_{10}$ 10 Minuten auf 120° in Autoklaven erhitzt (Farbe unverändert, kein Niederschlag).

Tabelle VII.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	$Al_6O_{14}H_{10}$-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
21	72	$Al_6O_{14}H_{10}$ 6,0	42,00	{ 22,40 22,54	
22	72	„ 7,0	49,00	{ 23,24 22,40	
23	72	„ 8,0	56,00	{ 22,40 23,38	
24	72	„ 9,0	63,00	{ 21,70 22,26	
25	72	„ 10,0	70,00	{ 21,00 20,30	
26	72	„ 12,5	87,50	{ 19,46 19,88	
27	72	„ 15,0	105,00	{ 18,90 18,90	
28	72	„ 20,0	140,00	{ 18,48 18,76	

Kolloidales Arsentrisulfid (As_2S_3).

Bereitet nach H. Schultze.[1]) In Präparat Nr. I (0,292% $As_2S_3 = 0{,}01188$ Mol pro Liter) wurde der überschüssige Schwefelwasserstoff durch Kochen und Durchleiten eines Luftstromes entfernt; in Präparat Nr. II. (0,8768% $As_2S_3 = 0{,}03571$ Mol pro Liter; Acidität = 0,0146% HCl) geschah dies einfach durch kohlensäurefreien Luftstrom; letzteres Präparat wurde durch Zusatz von Gelatine (bis zum Gehalte von 0,03%) stabilisiert. Präparat Nr. III (Taf. XIII) enthält 1,288% $As_2S_3 = 0{,}05$ Mol pro Liter.

Tabelle VIII.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe- resp. As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	{ 7,10 7,40
2	110	—	—	{ 10,90 10,70
3	110	Ag 20	—	{ 19,04 18,76
4	110	As_2S_3 2 Nr. I	5,84	{ 14,30 14,40

[1]) Vgl. Lottermoser, l. c.

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe- resp. As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
5	110	5	14,6	13,90 13,90
6	110	10	29,2	13,40 13,30
7	110	20	58,4	9,52 9,24
8	110	50	146,0	8,40 8,40
9	110	$Fe(OH)_3$ 0,2 Nr. III	3,260	14,80 15,30
10	110	„ 0,5	8,150	16,40 16,50
11	110	„ 1,0	16,300	11,26 11,12
12	110	„ 5,0	81,500	8,96 9,10
13	110	„ 10,0	163,000	8,26 8,12

Tabelle IX.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Fe- resp. As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	6,16 6,30
2	90	—	—	21,70 21,84
3	90	Ag 20	—	28,42 28,70
4	90	$Fe(OH)_3$ 0,1 Nr. III	1,630	23,52 23,80
5	90	„ 0,5	8,150	25,06 25,34
6	90	„ 1,0	16,300	21,56 21,56
7	90	„ 5,0	81,500	17,80 17,50
8	90	As_2S_3 0,01 Nr. II	0,08768	21,14 21,00
9	90	„ 0,5	0,4384	27,86 28,70
10	90	„ 1,0	8,768	28,0 28,42
11	90	„ 5,0	43,84	13,86 14,28

Tabelle X.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugestellte kolloidale Lösung in ccm	As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	{ 3,78 / 4,06
2	72	—	—	{ 8,26 / 8,12
3	72	Ag 20	—	{ 12,5 / 12,3
4	72	As_2S_3 0,1 Nr. I	0,292	{ 8,12 / 7,84
5	72	„ 0,3	0,876	{ 8,26 / 8,40
6	72	„ 0,5	1,46	{ 8,12 / 8,12
7	72	„ 0,75	2,19	{ 8,96 / 8,82
8	72	„ 1,00	2,92	{ 9,52 / 9,80
9	72	„ 1,5	4,38	{ 9,94 / 10,22
10	72	„ 2,0	5,84	{ 11,06 / 11,20

Tabelle XI.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	{ 4,76 / 5,32	Aus allen Proben wurden vor Unterbrechung der Autolyse aerob und anaerob Agarkulturen angelegt: mit Ausnahme von Nr. 6—14—22, in welchen sich wenige Schimmelpilze entwickelten, erwiesen sich die übrigen als steril.
2	96	—	—	{ 24,92 / 24,36	
3	96	Ag 20	—	{ 33,88 / 34,44	
4	96	As_2S_3 0,05 Nr. II	0,4384	{ 28,14 / 28,56	
5	96	As_2S_3 0,075	0,6576	{ 28,58 / 28,84	

Tabelle XI (Fortsetzung).

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
6	96	" 0,1	0,8768	28,84 29,40	
7	96	" 0,5	4,384	30,80 31,36	
8	96	" 0,75	6,576	31,64 31,64	
9	96	" 1,00	8,768	30,38 30,52	
10	96	" 1,5	13,152	29,96 30,10	
11	96	" 2,0	17,536	29,12 29,68	
12	96	" 2,5	21,92	29,40 29,96	
13	96	" 3,0	26,304	29,40 29,40	
14	96	" 3,5	30,688	28,28 28,96	
15	96	" 4,0	35,072	27,16 27,30	
16	96	" 4,5	39,456	23,80 24,36	
17	96	" 5,0	43,84	15,54 16,10	
18	96	" 7,5	65,76	15,40 15,68	
19	96	" 10,0	87,68	13,44 14,00	
20	96	" 15,0	131,52	12,32 12,60	
21	96	As_2S_3 20,0 Nr. II	175,36	12,60 13,58	
22	96	" —	—	24,64 24,92	mit 2,0 ccm HCl $^1/_{100}$ N versetzt entsprechend der mit Phenophtalein titrierten Acidität von Nr. 17.
23	96	" —	—	24,22 24,36	mit 8,0 ccm HCl $^1/_{100}$ N versetzt, entsprechend der Acidität von Nr. 21.

Tabelle XII.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	As_2S_3-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	4,20 4,76
2	72	—	—	9,10 8,82
3	72	Ag 20	—	15,68 15,40
4	72	As_2S_3 0,001 Nr. II	0,008768	8,96 9,24
5	72	„ 0,005	0,04384	9,52 9,10
6	72	„ 0,0075	0,06576	8,96 9,24
7	72	„ 0,01	0,08768	9,38 9,80
8	72	„ 0,03	0,26304	9,94 10.08
9	72	„ 0,05	0,4384	10,78 10,78
10	72	„ 0,075	0,6576	11,06 11,34
11	72	„ 0,1	0,8768	11,48 11,48
12	72	„ 0,3	2,6304	12,04 12,32
13	72	„ 0,5	4,384	12,60 12,74
14	72	„ 0,75	6,576	12,88 13.58
15	72	„ 1,00	8,768	13,30 13,44

Tabelle XIII.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	As_2S_3 Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	{ 6,30 6,44	
2	52	—	—	{ 16,52 17,26	
3	52	Ag 20	—	{ 28,00 28,56	
4	52	As_2S_3 1,0 Nr. III	12,882	{ 25,26 25,48	
5	52	„ 2,5	32,20	{ 20,16 20,48	
6	52	„ 1,0	12,88	{ 18,90 19,46	As_2S_3 10 Minuten auf 120° in Autoklaven erhitzt.
7	52	„ 2,5	32,20	{ 20,58 21,00	

Die Tabellen lehren, daß auch **das kolloidale Arsentrisulfid auf die Leberautolyse beschleunigend wirkt und bei steigendem Zusatze die Aktivierung der Hemmung das Feld räumt** (vgl. auch Kontrollversuch Nr. 22, 23, Taf. XI). merkwürdig erscheint, daß das kolloidale As_2S_3 nach (C. Foà[1])) sowohl auf eine Reihe direkter als durch Oxydasen vermittelter Oxydationsvorgänge nur hemmend wirkt.

Präparat Nr. I erweist sich bedeutend schwächer als Nr. II; wir dürften kaum fehlgehen dies dem Umstand zuzuschreiben, daß Präparat Nr. I zum Austreiben des Schwefelwasserstoffs gekocht wurde; aus Tab. XIII geht nämlich hervor, daß die Aktivität des kolloidalen Arsentrisulfids durch Erhitzen geschädigt wird.

Mangandioxyd (MnO_2).

Die kolloidale Mangandioxydlösung verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Bredig[2]), dem wir auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank aussprechen. Die Lösung enthielt 0,0260% $MnO_2 = 0,002981$ Mol pro Liter.

---

[1]) C. Foà, l. c.

[2]) Vgl. A. Marck, Die Katalyse des H_2O_2 durch kolloidales Mangandioxyd. Inaug.-Diss., Heidelberg 1907.

Tabelle XIV.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	MnO_2 Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg	Bemerkungen
1	—	—	—	6,30 6,44	
2	52	—	—	16,52 17,26	
3	52	Ag 20	—	28,00 28,56	
4	52	Mn_2O_2 0,01	0,0026	verloren	
5	52	„ 0,05	0,013	16,66 17,40	
6	52	„ 0,1	0,026	18,62 19,46	
7	52	„ 0,5	0,13	21,00 21,00	
8	52	„ 1,0	0,26	23,80 24,36	
9	52	„ 2,5	0,65	26,60 26,88	
10	52	„ 5,0	1,3	28,84 29,12	
11	52	„ 10,0	2,6	29,96 30,10	
12	52	„ 20,0	5,2	16,80 17,64	
13	52	„ 30,0	7,8	15,96 16,24	
14	52	„ 40,0	10,4	15,26 14,98	
15	52	„ 50,0	13,0	14,28 14,00	
16	52	„ 1,0	0,26	19,46 18,76	MnO_2 10 Minuten auf 120° in Autoklaven erhitzt.
17	52	„ 5,0	1,3	21,42 20,86	

Tabelle XV.

Nummer	Versuchs-dauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende N-Menge in mg
1	—	—	—	6,58 7,42
2	60	—	—	19,88 20,02
3	60	Ag 20	—	28,28 28,84
4	60	MnO_2 5,0	1,30	26,18 26,88
5	60	„ 7,5	1,95	27,86 28,28
6	60	„ 10	2,60	28,70 29,12
7	60	„ 12,5	3,25	25,06 25,90
8	60	„ 15	3,9	21,98 22,68
9	60	„ 20	5,2	verloren
10	60	„ 25	6,5	19,88 19,60
11	60	„ 35	9,1	19,32 18,90
12	60	„ 45,0	11,7	18,34 18,20
13	60	Pd 5	1,25	20,86 21,00
14	60	„ 15	3,75	22,12 22,40
15	60	„ 25	6,25	24,36 24,50
16	60	„ 35	8,75	25,48 26,04
17	60	„ 45	11,25	26,46 27,16
18	60	„ 50	12,50	26,60 27,30

Demnach wirkt das Präparat auf die Autolyse beschleunigend, auch wenn nur Spuren desselben ($^3/_{100}$ mg) angewendet werden: bei Heranziehung größerer Mengen tritt auch hier die Hemmung der Autolyse ein; durch Erhitzen wird es in seiner Wirksamkeit stark beeinträchtigt.

Begünstigende Wirkung auf die Leberautolyse zeigt auch das auf elektrischem Wege hergestellte kolloidale

Palladium.

Die betreffende Lösung war 0,0255 prozentig = 0,002408 Mol pro Liter.

Tabelle XVI.

Nummer	Versuchsdauer in Stunden	Zugesetzte kolloidale Lösung in ccm	Pd-Gehalt in mg	In 5 ccm Filtrat nach Koagulation anwesende M-Menge in mg
1	90	—	—	6,16 6,30
2	90	—	—	21,70 21,84
3	90	Ag 20	—	28,42 28,70
4	90	Pd 1	0,25	21,98 21,14
5	90	„ 5	1,25	23,52 22,96
6	90	„ 10	2,5	24,92 25,48
7	90	„ 20	5,0	26,60 26,60
8	90	„ 50	12,5	28,14 28,28

Hier aber blieb jegliche Hemmung der Autolyse aus, auch wenn die kolloidale Lösung unverdünnt hinzugesetzt wurde, wie dies nach unserer ersten Mitteilung auch für das auf elektrischem Wege hergestellte kolloidale Ag der Fall ist. Da aber die Konzentration dieser Lösungen bedeutend geringer ist als diejenige der früher erwähnten auf chemischem Wege bereiteten, so liegt die Möglichkeit vor, daß dieses abweichende Verhalten auf den Umstand zurückzuführen sei, daß mit den in Rede stehenden elektrisch dargestellten kolloidalen Lösungen die zur Hemmung nötige Konzentration praktisch nicht erreicht wird.

Über den Ansatz von Lecithin und sein Verhalten im Organismus.

Von

Dr. Giuseppe Franchini aus Bologna.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 13. August 1907.)

Während man früher ziemlich allgemein annahm, daß das mit den Nahrungsmitteln in den Magen-Darmkanal gelangte Lecithin im Darm vollständig zersetzt wird, haben neuere Autoren, namentlich Slowtzoff[1]) mit Bestimmtheit nachgewiesen, daß mindestens ein erheblicher Teil des Lecithins zur Resorption gelangt. Wenn man also diese Tatsache als feststehend ansehen kann, so ist die Frage, ob das Lecithin ähnlich den Fetten eines Ansatzes im Organismus fähig ist, d. h. ob es gelingt, Organe durch Zufuhr von Lecithin lecithinreicher zu machen, noch ganz offen. Ebenso fehlt es noch an ausreichenden Untersuchungen über das Schicksal des nach der Resorption der Zerstörung anheimfallenden Lecithins. Auf Veranlassung von Prof. E. Salkowski habe ich mich mit diesen Fragen beschäftigt.

Die Versuche sind an Kaninchen angestellt.

Zur besseren Übersicht will ich die Untersuchungen, die ich ausgeführt habe, nach den verschiedenen Organen ordnen.

Leber.

Die Untersuchungen erstrecken sich auf 14 Kaninchen. 7 Kaninchen erhielten 3 Tage hintereinander täglich 2 g Lecithin, 24 Stunden nach der letzten Dosis wurden sie getötet. Außer dem Lecithin erhielten die Tiere nur Wasser zu trinken, kein Futter. Die anderen 7 Kaninchen erhielten nichts zu fressen und wurden

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 508 u. **8**, 370.

ebenfalls nach 4 Tagen getötet. Am Anfang und am Ende des Versuchs wurden die Tiere gewogen. Das Lecithin stammte aus der chemischen Fabrik von Kahlbaum und wurde in Wasser gelöst resp. emulgiert mit der Schlundsonde verabreicht. Nach zwei mit dem gebrauchten Lecithin vorgenommenen Phosphorbestimmungen betrug der Gehalt desselben an reinem Lecithin 79,98%, es erhielt also jedes Kaninchen innerhalb der 3 Tage 4,799 g reines Lecithin. Nach einer bestimmten Zeit wurden die Tiere durch Verbluten getötet, die Leber entnommen, die Gallenblase entfernt, dann das Gewicht festgestellt.

Der Gang der Untersuchung bestand in folgendem: Das äußerst fein zerhackte Organ wurde in einer Reibschale zerrieben. Von dem Brei wurden 10 g in einen Kolben getan, 93% Alkohol hinzugefügt und einige Zeit auf ein Wasserbad gestellt. Darauf wurde filtriert, der Rückstand 24 Stunden lang bei Zimmertemperatur mit Alkohol extrahiert, die Filtrate wurden langsam auf dem Wasserbad verdampft. Die rückständige Leber mit Alkohol absolutus ungefähr eine halbe Stunde lang in der Wärme extrahiert. Letzteres Filtrat wurde den zwei früheren hinzugefügt, um ebenfalls verdampft zu werden. Um zu sehen, ob im Rückstand noch mit Äther extrahierbare Substanzen vorhanden wären, habe ich ihn im Soxhletschen Apparat einige Zeit lang extrahiert. Die dabei erhaltene Fettmenge war minimal und konnte außer acht gelassen werden. Der definitive Rückstand wurde in absolutem Alkohol in der Wärme gelöst, wieder abgekühlt und filtriert. Der Alkohol, welcher nur einen Teil des Rückstandes gelöst hatte, wurde verdampft, der neue Rückstand nochmals in Alkohol absolutus gelöst und von neuem filtriert. So lange wurde die Verdampfung, die Lösung des Rückstandes und die Filtrierung fortgesetzt, bis beim Lösen in Alkohol nichts ungelöst blieb. Im letzten Filtrat fand sich das Lecithin gemischt mit einigen Salzen, welche ausfielen, wenn man ein gleiches Volumen Äthyläther hinzusetzte und 24 Stunden stehen ließ. Darauf wurde die Flüssigkeit filtriert, verdampft und der Rückstand in einer Platinschale mit Salpetermischung versetzt und geschmolzen. In der Lösung der Schmelze wurde die Phosphorsäure in der üblichen Weise nach vorgängiger Fällung mit Ammonmolybdat als Magnesiumpyrophosphat bestimmt. Der Berechnung des Lecithins wurde ein durchschnittlicher Gehalt des Lecithins von $P_2O_5 = 8{,}798\%$ zugrunde gelegt.

Dabei ist allerdings auf das Jecorin keine Rücksicht genommen, von dem etwas wohl noch in dem letzten absolut-alkoholischen Auszug vorhanden gewesen sein mag. Die erhaltenen Resultate finden sich in den Tabellen I und VII zusammengestellt. In diesen Tabellen findet sich das Gewicht der Tiere vor und nach dem Versuch, das Gewicht der Leber und die absolute und prozentische Menge des Lecithins. Es ergibt sich daraus für die Leber ein mittlerer Lecithingehalt von 0,7205 g bei den Kontrolltieren gegenüber 1,2449 bei den mit Lecithin behandelten, oder auf 100 g Leber 1,4836 bei ersteren und 2,2717 bei den behandelten. Diese an sich klaren Resultate bedürfen keiner Erklärungen. Die in der Leber der Kontrolltiere gefundene Lecithinmenge stimmt mit der von Lusena[1]) bei seinen Versuchen gefundenen nahe überein. Im Mittel erhielt er 1,6020%. Meine Zahlen sind ein wenig niedriger, weil die Tiere gehungert hatten. Auf die erste Frage nach der Möglichkeit, den Lecithingehalt in der Leber durch Darreichung von Lecithin zu vermehren, können wir also in bejahendem Sinne antworten. In der Tat erhielten wir nach 4,799 g Lecithin eine prozentuale Zunahme von 0,7881 g in der Leber oder von 0,5266 g absolut gegenüber den Kontrolltieren. In der Literatur habe ich hierüber nur eine Angabe von Ferrata und Moruzzi[2]) gefunden. Sie fanden bei einem mit Lecithin gefütterten Hunde 0,2655 $Mg_2P_2O_7$ aus dem Lecithin von 100 g Leber, bei einem normalen Hunde dagegen nur 0,17 g $Mg_2P_2O_7$, jedoch ist dieser Befund zu vereinzelt, um eine besondere Bedeutung beanspruchen zu können.

Gehirn.

Danilewski, welcher Hunde mit Lecithin gefüttert hat, glaubt gefunden zu haben, daß dieselben lebhafter und kräftiger waren als die Kontrolltiere, er nimmt an, daß daran wahrscheinlich nicht nur Hyperämie des Gehirns und eine bessere Zusammensetzung des Blutes schuld ist, sondern auch eine unmittelbare Wirkung des Lecithins auf das Gehirn selbst.

Meine Versuche führten zu anderen Resultaten. Vergleiche Tabellen III und IX. Ich fand bei den Kontrolltieren (Kaninchen)

---

[1]) Sperimentale, Anno LVII, Fascicolo I.

[2]) Arch. f. Verdauungskrankh. **1907**.

einen mittleren absoluten Wert von 0,2528 g oder 2,96%; dagegen bei den mit Lecithin gefütterten Tieren 0,2322 g oder 2,73%.[1]) Daraus geht hervor, daß von einer Vermehrung des Lecitins im Gehirn nach Fütterung damit nicht die Rede sein kann. Die bei vielen Kranken angeblich gefundene psychische Besserung nach Darreichung von Lecithin kann danach schwerlich von einer Vermehrung des Phosphors in den nervösen Organen abhängen, ganz abgesehen davon, daß die verabreichten Lecithinmengen hierzu viel zu gering waren. Für das verschiedene Verhalten des Gehirns gegenüber der Leber und, wie wir weiterhin sehen werden, gegenüber den Muskeln, läßt sich schwer eine Erklärung finden. Der Grund hierfür ist unbekannt und beruht wohl auf der inneren Struktur der Nervenzellen.

Muskeln.

In betreff der Muskeln habe ich mich ebensowenig wie betreffs des Gehirns auf vorliegende Untersuchungen beziehen können. Weyl[2]) und Zeitler nehmen an, daß der Lecithingehalt des frischen Kaninchenmuskels im Mittel 0,69% beträgt. Diese Ziffer stimmt mit der von mir gefundenen überein. Aus den Tabellen II und VIII sieht man, daß der Lecithingehalt der Muskeln während der Verabreichung von Lecithin ansteigt, die Zunahme ist nicht so stark wie in der Leber, aber in jedem Fall festgestellt. Bei den Kontrolltieren (Kaninchen) war der Lecithingehalt 0,67% oder 4,389 g im ganzen, während bei den Lecithintieren 0,78% resp. 4,99 g gefunden wurden.

Verbleib des Lecithins in den Organen.

Es fragte sich nun, ob das durch die Fütterung mit Lecithin bewirkte Plus an Lecithin den Stoffwechselvorgängen schnell unterliegt oder ob es eine gewisse Persistenz hat. Ich untersuchte in dieser Hinsicht 10 Kaninchen. Wie sich aus Tabelle V ergibt, erhielten die ersten 8 Kaninchen 3 Tage lang täglich Lecithin, im ganzen rund 4,8 g. Sie wurden darauf nach Ablauf

---

[1]) Selbstverständlich soll nicht gesagt sein, daß sämtlicher alkohollöslicher Phosphor auf Lecithin zu beziehen sei, die Umrechnung hierauf ist nur der Gleichmäßigkeit wegen ausgeführt.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **6**, 564.

einer verschiedenen Anzahl von Tagen getötet. Die Versuche haben ergeben, daß nach 8 Tagen, also 5 Tage nach der letzten Lecithingabe, die Tiere in der Leber eine größere Quantität Lecithin aufwiesen als die hungernden Kontrolltiere nach 3 Tagen. Ein nach 12 Tagen, also 9 Tage nach der letzten Lecithinfütterung, getötetes Kaninchen hatte in der Leber 0,97 g Lecithin, also mehr als hungernde Tiere, bei denen im Mittel 0,72 g gefunden wurden. Kaninchen IX erhielt 3 Tage lang nur Lecithin, darauf gewöhnliche Nahrung, nach 15 Tagen wurde es getötet. Auch in diesem Fall war der absolute Lecithingehalt der Leber ziemlich gesteigert. Kaninchen X erhielt zu seiner gewöhnlichen Nahrung 3 Tage lang Lecithin. Bei dem nach 18 Tagen, also 15 Tage nach der letzten Lecithingabe, getöteten Tier fand ich in der Leber noch immer eine größere Menge Lecithin als normal.

Die an den Muskeln angestellten Untersuchungen sprachen nicht so für sich, wie die an der Leber, trotzdem fand ich auch hier bei einem nach 8 Tagen getöteten Tier 4,87 g Lecithin, während die hungernden Kaninchen im Mittel 4,38 g hatten. Hierzu brauche ich nur wenige Bemerkungen zu machen. Niemand wird die Bedeutung solcher Befunde verkennen, welche lehren, daß das Lecithin lange Zeit in der Leber liegen bleibt, ebenso in den Muskeln, und infolgedessen noch lange Zeit nachher Wirkungen auszuüben vermag.

Harnuntersuchungen.

Der Urin wurde sorgfältig aufgefangen, mit Toluol versetzt und am Ende jeder Periode untersucht. Die Untersuchungen bezogen sich auf den Gesamtphosphorgehalt, die Glycerinphosphorsäure, die Fettsäuren, Cholin und Ameisensäure. Meine Untersuchungen betrafen zuerst die Bestimmung der anorganischen und organischen Phosphorverbindungen, um zu sehen, ob bei Darreichung von Lecithin ihre Menge steigt. Man weiß, daß der größte Teil des im Urin gefundenen Phosphors aus der Nahrung stammt, der kleinere aus dem organisch gebundenen Phosphor der Gewebsbestandteile; der letztere Anteil soll nach Ansicht mancher Autoren wenigstens zum Teil als Glycerinphosphorsäure ausgeschieden werden, während nach anderen auch dieser Anteil vollständig bis zu Phosphorsäure oxydiert wird. Ich habe mein Augenmerk besonders darauf gerichtet, zu sehen,

ob bei Darreichung von Lecithin eine Steigerung der organischen Phosphorsäure im Urin auftritt. Die Versuche beziehen sich auf 4 Kaninchen. Zur Phosphorsäurebestimmung habe ich die Methode von Neubauer angewendet mit der Modifikation, daß ich, anstatt den Urin sofort mit Uranlösung zu titrieren, ihn mit Magnesiamischung ausfällte. Der nach mehreren Stunden abfiltrierte und ausgewaschene Niederschlag wurde in Essigsäure gelöst, die Lösung mit Uranlösung titriert. Zur Bestimmung des organischen Phosphors fällte ich zuerst die Phosphorsäure mit Magnesiamischung aus. Das Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand mit Salpetermischung geschmolzen und in der Schmelze die Phosphorsäure in der üblichen Weise nach vorgängiger Fällung mit Ammonmolybdat bestimmt. Aus den in den Tabellen IV und X niedergelegten Resultaten ergibt sich folgendes:

I. Die Phosphorsäuremenge im Urin steigt nach der Darreichung von Lecithin. II. Es steigt auch die Menge der Glycerinphosphorsäure bei den Lecithintieren auf das Dreifache gegenüber den Kontrolltieren. Das gleiche Resultat ergeben die Untersuchungen von Politis: bei Lecithinfütterung tritt die Hauptmenge der aufgenommenen Phosphorsäure in den Harn über. Die Zunahme der Glycerinphosphorsäure steht nicht in Übereinstimmung mit den Angaben früherer Autoren (Oertel, Bergmann, Loewy), nach denen auch bei reichlicher Lecithinfütterung die Glycerinphosphorsäure nicht vermehrt werden soll. Obwohl die Anzahl der von mir angestellten Versuche nur gering ist, scheint mir die Vermehrung der Glycerinphosphorsäure aus denselben doch mit Sicherheit hervorzugehen.

Cholin und Ameisensäure.

Über die Rolle des Cholins im Organismus ist viel diskutiert worden. Bei Menschen findet es sich angeblich in geringer Menge im Gehirn präformiert, bei Nervenkranken soll es auch in der Cerebrospinalflüssigkeit vorkommen. Im normalen Urin wurde kein Cholin gefunden, auch Hoppe-Seyler fand nach intravenöser Injektion von 0,02 g keine Spur darin vor. Dieselbe Tatsache wurde späterhin von v. Hoesslin[1]) festgestellt sowohl nach Cholin-

[1]) Über den Abbau des Cholins im Tierkörper. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 27.

fütterung als auch Injektion dieser Substanz. Die Untersuchungen von Pohl und später von v. Hoesslin haben nun neue Tatsachen ans Licht gebracht, d. h. den möglichen Übergang des Cholins in den Harn als Ameisensäure. Schon andere frühere Untersuchungen von Hasebroek[1]) haben die Leichtigkeit gezeigt, mit der das Cholin bei der Fäulnis Grubengas bilden kann. Pohl[2]) hat durch Versuche mit Äthyl- und Methylalkohol an Tieren gezeigt, daß letzterer zu Ameisensäure oxydiert und diese im Urin ausgeschieden wird. Nicht nur der Methylalkohol, sondern auch Ester desselben, das Methylamin, der Formaldehyd, die Oxymethylsulfonsäure unterliegen zum Teil dieser Umwandlung. Versuche mit Äthylalkohol führten dagegen zu negativen Ergebnissen. Über das Verhalten von in den Organismus eingeführtem Cholin liegen bereits Untersuchungen von v. Hoesslin[3]) vor. v. Hoesslin geht von der Überlegung aus, daß das Cholin im Tierkörper entmethyliert werden könnte, wie wir dieses von vielen anderen Methylverbindungen wissen. Eine solche Entmethylierung würde nach v. Hoesslin in erster Linie zu Methylalkohol und Methyloxäthylamin führen, doch sei auch ein weiterer Abbau dieses zu Methylamin und Glykol oder zu Methylalkohol und Oxäthylamin denkbar. Wenn das aber der Fall ist, war eine Oxydation der abgespaltenen Methylgruppen zu Ameisensäure zu erwarten, welche v. Hoesslin auch in der Tat nach Eingeben von bromwasserstoffsaurem Cholin in reichlicher Menge im Harn fand. Da die Ameisensäure selbst, in den Organismus eingeführt, größtenteils zu CO_2 und H_2O oxydiert wird, so konnte man immer nur verhältnismäßig kleine Mengen von Ameisensäure im Harn erwarten.

Es war danach geboten, den während der Lecithinfütterung entleerten Harn auf das Vorhandensein von Cholin und Ameisensäure zu untersuchen. Ich habe die Harne von 13 Kaninchen nach dieser Richtung hin untersucht. Zur Untersuchung auf Cholin wurde der Harn auf dem Wasserbad stark eingedampft und mit Alkohol absolutus ausgezogen. Der filtrierte alkoholische Auszug wurde wieder mit Alkohol absolutus ausgezogen und

---

[1]) Über das Schicksal des Lecithins im Körper. Zeitschr. f. physiol. Chem. 12, 148, 1888.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 31, 281.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 27.

dieses Verfahren so lange wiederholt, bis sich der Rückstand vollständig in absolutem Alkohol löste. Diese Lösung wurde mit Quecksilberchlorid gefällt, nach 24 Stunden abfiltriert, der Niederschlag mit heißem Wasser behandelt, worin er sich nur zum Teil löste, die filtrierte Lösung mit Schwefelwasserstoff behandelt, vom Quecksilbersulfid abfiltriert und stark eingedampft, dann mit Platinchlorid versetzt. Es bildete sich beim Eintrocknen allmählich eine Krystallisation einer Platinverbindung in sehr geringer Quantität, es ergab sich aber bald, daß diese Krystalle nicht das gesuchte Cholinplatinchlorid sein konnten, denn die Krystalle erwiesen sich im Wasser als schwer löslich, und wenn man die filtrierte Lösung eindampfte und den Rückstand aufs neue mit Wasser behandelte, so ging nur äußerst wenig in Lösung. Die Krystalle waren also wohl Ammoniumplatinchlorid oder, was wahrscheinlicher ist, Kaliumplatinchlorid, übrigens ihre Quantität äußerst gering. Man kann daher wohl mit Bestimmtheit sagen, daß der Harn kein Cholin enthält.

Untersuchung auf Ameisensäure.

Wie schon Pohl und v. Hoesslin hervorgehoben haben, wird die Bestimmung der Ameisensäure dadurch sehr erschwert, daß sie beim Destillieren des Harns mit Schwefelsäure oder Phosphorsäure nur äußerst langsam und sehr schwer vollständig in das Destillat übergeht. Das gilt sogar von wässerigen Lösungen von Ameisensäure. Es wurde u. a. eine wässerige Ameisensäurelösung hergestellt, von der 10 ccm zur Neutralisation 24,3 ccm $^1/_5$ Normalnatronlauge erforderten. 10 ccm wurden mit 100 ccm Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure angesäuert und etwa zwei Drittel abdestilliert. Dieses Destillat erforderte nur 6,9 ccm $^1/_5$ Normalnatronlauge. Nun wurde das Volumen im Destillierkolben annähernd auf 100 g ergänzt und möglichst weit abdestilliert. Dieses wurde noch zweimal wiederholt. Das zweite Destillat erforderte 6,7 ccm, das dritte 6,9 ccm, das vierte 3,6 ccm, im ganzen die gesamten Destillate 23,4 ccm, also annähernd die erforderte Menge. Es erwies sich daher als notwendig, das von v. Hoesslin empfohlene Verfahren der Destillation im Dampfstrom anzuwenden. Dabei wird der Harn mit Phosphorsäure angesäuert (auf je 100 ccm Harn 30 ccm 25prozentige Phosphor-

säure). Die Destillation wird so lange fortgesetzt, bis das Destillat nicht mehr sauer reagiert. Dazu sind, wie auch v. Hoesslin angibt, oft 12 Stunden und mehr erforderlich. Zur quantitativen Bestimmung der Ameisensäure nach Skala (Reduktion von Quecksilberchlorid zu Chlorür) werden die gesamten Destillate leicht alkalisiert, zur Trockne gedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, mit Essigsäure angesäuert, mit Quecksilberchloridlösung ziemlich stark eingedampft, wobei sich nach einiger Zeit Mercurochlorid abscheidet. Dieses wird nach 24 Stunden auf einem getrockneten, gewogenen Filter abfiltriert, völlig ausgewaschen, dann bei 100° getrocknet und wieder gewogen. 1 g Mercurochlorid entspricht 0,0975 Ameisensäure. Die erhaltenen Resultate finden sich in Tabelle VI. Man sieht daraus, daß bei den Lecithintieren die Ameisensäure im Urin gegenüber den Kontrolltieren, bei denen ich im Mittel 0,0344 g gefunden habe, vermehrt ist. Die Zahlen zeigen große Schwankungen ganz entsprechend analogen Beobachtungen von Pohl und v. Hoesslin. Das im Organismus aus Lecithin abgespaltene Cholin verhält sich also ebenso wie von außen eingeführtes.

Bei der quantitativen Bestimmung der Ameisensäure ist noch ein Punkt zu berücksichtigen: die Destillate enthalten, worauf mich Prof. Salkowski aufmerksam machte, stets eine gewisse Quantität schweflige Säure, bald mehr, bald weniger, nachweisbar durch die Reaktion mit Ferricyankalium und Eisenchlorid. Es war also nötig, eine Korrektur anzubringen. Hierzu wurde in einem Teil des Destillates die schweflige Säure durch Oxydation mit Bromwasser in Schwefelsäure übergeführt und diese quantitativ bestimmt. Das erhaltene Bariumsulfat wird auf Calomel umgerechnet (233 T. $BaSO_4 = 471$ T. Hg_2Cl_2) und in Abzug gebracht. Der bei Nichtberücksichtigung der SO_2 gemachte Fehler beträgt zwischen 0,0035 und 0,0170 g Ameisensäure pro Tag (vgl. die Tabelle XII). Im Anschluß daran wurde auch Harn von Hunden und Menschen untersucht und im Hundeharn mehr, im Menschenharn weniger schweflige Säure bei Destillation mit Phosphorsäure gefunden. Warum bisweilen die schweflige Säure in großer Menge auftrat, andere Male nur in geringer Qualität, läßt sich nicht sagen. Das wichtigste scheint mir die Tatsache, daß die schweflige Säure jedesmal gefunden ist.

Untersuchung des Harns auf Fettsäuren.

Es war nun noch nach dem dritten Bestandteil des Lecithins, der Fettsäure, zu forschen. Wenn auch anzunehmen ist, daß der größte Teil der beim Zerfall des Lecithins frei werdenden Fettsäuren oxydiert wird, so lag doch die Möglichkeit vor, daß ein Teil unverändert im Harn erscheint. Zur vorläufigen Orientierung schien es mir genügend, den Gehalt des Harns an in Äther löslichen Fettsäuren bzw. der Acidität derselben (nach Entfernung der flüchtigen Säuren) festzustellen. Ich verfuhr folgendermaßen: 100 ccm Urin wurden mit 50 ccm verdünnter Schwefelsäure versetzt und bis auf ein Viertel seines Volumens abdestilliert. In das Destillat gingen die flüchtigen Fettsäuren über. Die rückständige Flüssigkeit wurde im Schütteltrichter gründlich mit Äther ausgeschüttelt, der ätherische Auszug verdunstet, der Rückstand nach Zusatz von Natriumcarbonat in Wasser gelöst, filtriert, das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert, aufs neue mit Äther ausgeschüttelt, der Ätherauszug abdestilliert, der Rückstand unter Alkoholzusatz mit $^1/_5$ Normalnatronlauge titriert (vgl. Tabelle VI). Der Urin des Kaninchens VIII, welches 3 Tage gehungert und kein Lecithin erhalten hatte, ergab eine Acidität von 16,4 ccm in $^1/_5$ Normalnatronlauge ausgedrückt. Ein zweites Kaninchen ergab 12 ccm, im Mittel also 14,2. Es erscheint daher die bei den Lecithintieren gefundene Zahl von 26 ccm fast doppelt so groß. Da die Lecithintiere außer dieser Substanz kein anderes Futter erhalten hatten, woraus man den größeren Säuregehalt des Urins hätte erklären können, so scheint es wahrscheinlich, daß die Vermehrung der Fettsäuren im Urin durch das eingeführte Lecithin bedingt ist.

Untersuchung der Faeces.

Neuere Untersuchungen (vgl. v. Noorden, Pathologie des Stoffwechsels, 2. Aufl., 1, 58) sollen bewiesen haben, daß im Kot außer neutralem und gespaltenem Fett Lecithin und Cholesterin in beachtenswerter Menge vorkommt. Meine diesbezüglichen Untersuchungen haben regelmäßig eine Steigerung des Lecithingehaltes während der Lecithinfütterung ergeben. Ich will nicht unterlassen zu bemerken, daß einmal bei einem Kontrolltier, ebenso einmal bei einem Lecithintier, keine Spur

Lecithin im Kot nachzuweisen war. Es verläßt also nur ein verhältnismäßig kleiner Teil des Lecithins unverändert den Darmkanal.

Der letzte Teil meiner Untersuchungen bezog sich auf die Frage, ob sich die näheren Spaltungsprodukte des Lecithins bei einer Fütterung damit in den Organen nachweisen lassen.

Die Organe wurden fein zerrieben und mehrmals mit Alkohol extrahiert, der Rückstand im Wasser gelöst, gekocht und filtriert. In dem Filtrat wurde der Gesamtphosphor mit Magnesiamischung ausgefällt, dann nach 24stündigem Stehen filtriert und aus dem Filtrat der organische Phosphor nach der oben angegebenen Methode bestimmt.

In der Tabelle XI sind die Resultate meiner Untersuchung an 6 Kaninchen wiedergegeben.

Man sieht daraus, daß der Gehalt an Glycerinphosphorsäure in der Leber und in den Muskeln bei den mit Lecithin gefütterten Tieren (3 Tage lang je 1,8 g) größer war als bei den hungernden und den gewöhnlich ernährten Tieren. Auch wurde bei einem Kaninchen, welches neben dem gewöhnlichen Futter noch Lecithin bekam, eine höhere Zahl gefunden als bei einem gewöhnlich ernährten Kontrolltier.

Kurz zusammengefaßt ergeben meine Untersuchungen folgende Resultate:

1. Lecithinfütterung steigert bei Kaninchen den Lecithingehalt in der Leber und in den Muskeln, aber nicht im Gehirn.
2. Der erhöhte Gehalt der Leber an Lecithin erhält sich ziemlich lange nach dem Aufhören der Fütterung damit (im Maximum 15 Tage).
3. Im Urin findet sich eine geringe Zunahme der Glycerinphosphorsäure, kein Cholin, wohl aber Ameisensäure, die als Spaltungs- und Oxydationsprodukt des Cholins aufzufassen ist.
4. Im Kot ist der Lecithingehalt bei der Lecithinfütterung wenig vermehrt.
5. In den Muskeln und in der Leber läßt sich bei der Lecithinfütterung Glycerinphosphorsäure in vermehrter Menge nachweisen.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Professor E. Salkowski meinen ergebensten Dank für das Thema sowie für seine Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit auszusprechen.

Tabelle I.

Hunger-Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens				Lecithingehalt in der Leber	
	Beginn des Versuches g	Ende g	Dauer des Versuches	Lebergew. g	%	Absolut g
I	—	—	3 Tage	44,5	2,1301	0,9479
II	1750	1430	3 „	56,800	2,18	1,2366
III	2000	1750	3 „	57,5	2,0521	1,18
IV	1800	1480	3 „	52	2	1,3639
V	1950	1775	3 „	52,2	2,46	1,2957
VI	1900	1560	3 „	53	2,89	1,5514
VII	1780	1590	3 „	49,5	2,19	1,14
				Im Mittel	2,2717	1,2449

[1]) Vom ersten Tage der Lecithinfütterung an gerechnet, 3 × 24 Stunden nach der ersten Einspritzung.

Tabelle II.

Hunger-Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens				Lecithingehalt in den Muskeln	
	Beginn des Versuches g	Ende g	Dauer des Hungers	Muskel-Gewicht g	%	Absolut g
I	1800	1480	3 Tage	592	0,8200	4,87
II	1950	1775	3 „	710	0,6890	4,83
III	1900	1560	3 „	624	0,7330	4,57
IV	1780	1590	3 „	636	0,9130	5,75
				Im Mittel	0,7887	4,99

Tabelle III.

Hunger-Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Gehirngewicht g	Lecithingehalt im Gehirn %	Absolut g
I	8	3,18	0,2546
II	7,8	2,5	0,1956
III	9,8	2,51	0,2466
	Im Mittel	2,73	0,2322

Tabelle IV.

Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Harn von 3 Tagen		Faeces	
	Phosphorsäure P_2O_5	Glycerinphosphorsäure auf P_2O_5 berechnet	Quantität g	Lecithingehalt g
I	—	—	5,8	0,0545
II	0,6880	—	5,50	0,0101
III	1,2670	—	11	0,0500
IV	0,6250	0,0129	2,5	0,0579
V	0,54	0,0700	3	Kein Lecithin
VI	1,25	0,0184	4,5	0,0238
VII	1,05	0,01	3	0,0266
Im Mittel	0,9033	0,0278		

Tabelle V.

Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens		Dauer des Hungers	Gewicht der Leber g	Lecithingehalt in der Leber		Gewicht[1] g	Lecithingehalt in den Muskeln	
	Beginn des Versuches g	Ende g			%	Absolut g		Absolut g	%
I	2250	2000	3 Tg.	65	1,78	1,157	800	6,528	0,816
II	1750	1370	4 „	53	2,51	1,33	548	4.01	0,732
III	1950	1600	5 „	46,5	2,20	1,02	640	4,53	0,708
IV	1400	1180	6 „	40	2,205	0,88	472	2,39	0,508
V	1920	1600	7 „	41,1	1,86	0,7644	640	3,6351	0,558
VI	2400	1950	8 „	53	1,42	0,7526	780	4,81	0,617
VII	1920	1350	11 „	37,6	1,41	0,53	540	3,3210	0,615
VIII	2140	1550	12 „	62	1,498	0,92	620	3,98	0,642
IX	2050	1900	gefütt.	101,50	1,8288	1,8562	760	3,3136	0,436
X	1700	1650	„	54,900	2,6460	1,45	660	4,70	0,7122

[1]) Das Gewicht der Muskeln = 40% vom ursprünglichen Körpergewicht angenommen.

Tabelle VI.

Harn von Kaninchen mit Lecithin.

Kaninchen Nr.	Harn von	Quantität ccm	Ameisensäure g	Fettsäuren entsprechend $^1/_5$ n. NaOH ccm
IX	3 Tagen	320	0,1173	27,5
X	3 „	285	0,1020	29,8
XI	3 „	190	0,1618	23,5
XII	4 „	325	0,2965	20,4
XIII	4 „	520	0,1882	30
XIV	3 „	300	0,1681	37
XV	3 „	273	0,1600	32,6
XVI	3 „	350	0,1378	21
XVII	2 „	318	0,0680	18
XVIII	3 „	600	0,2103	22,6
XIX	3 „	180	0,1146	15
XX	3 „	220	0,0947	19,5
		Im Mittel	0,1516	26,16

Tabelle VII.

Hunger-Kaninchen ohne Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens			Lecithingehalt in der Leber	
	Beginn g	Ende g	Lebergew. g	% g	Absolut g
XXI	1550	978	30	1,0770	0,3231
XXII	1750	1535	45,1	1,0022	0,4960
XXIII	1750	1500	57,3	1,1627	0,6626
XXIV	2000	1850	63	1,67	0,9411
XXV	1900	1530	47,2	1,59	0,7536
XXVI	2000	1770	52	1,9430	1,01
XXVII	1700	1490	53,1	1,94	0,8774
			Im Mittel	1,4836	0,7205

Tabelle VIII.

Kaninchen ohne Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens		Muskeln Gewicht (berechnet)	Lecithingehalt in den Muskeln	
	Beginn des Versuches g	Ende g	g	%	Absolut g
I	2000	1800	720	0,57	3,478
II	1900	1530	612	0,633	3,870
III	2000	1770	708	0,662	4,687
IV	1700	1490	596	0,82	5,590
			Im Mittel	0,6701	4,406

Tabelle IX.

Hunger-Kaninchen ohne Lecithin.

Kaninchen Nr.	Dauer des Hungers	Gehirn-gewicht g	Lecithingehalt im Gehirn	
			% g	Absolut g
I	3 Tage	9	2,94	0,264
II	3 „	8,1	3,50	0,284
III	3 „	8,60	2,44	0,210
		Im Mittel	2,96	0,253

Tabelle X.

Hunger-Kaninchen ohne Lecithin.

Kaninchen Nr.	Harn		Faeces	
	Phosphorsäure P_2O_5 g	Glycerinphosphorsäure auf P_2O_5 berechnet g	Quantität g	Lecithingehalt g
I	—	—	2,1	0,0028
II	—	—	5	0,0019
III	—	—	2,0	0,0065
IV	0,63	—	5,6	0,0136
V	0,4050	—	8	Kein Lecithin
VI	0,36	0,0060	6,45	0,0435
VII	0,6250	0,0108	8	0,0092
VIII	0,47	0,0106	10	0,0246

Tabelle XI.

Glycerinphosphorsäure.

Hunger-Kaninchen ohne Lecithin.

Kaninchen Nr.	Körpergewicht des Kaninchens: Beginn des Versuches g	Körpergewicht des Kaninchens: Ende g	Dauer des Hungers	Lebergew. g	Glycerinphosphorsäuregehalt der Leber: %	Glycerinphosphorsäuregehalt der Leber: Absolut g	Muskel-[1]) gewicht g	Glycerinphosphorsäuregehalt in den Muskeln: %	Glycerinphosphorsäuregehalt in den Muskeln: Absolut
XXVIII	1470	970	3 Tg.	22,2	0,0541	0,0120	388	0,0140	0,0543
XXIX	1420	1190	3 „	40	0,04	0,0160	470	0,0180	0,0846
Kaninchen mit gewöhnlicher Nahrung ohne Lecithin.									
XXX	1290	—	—	42,6	0,0436	0,0186	516	0,0210	0,1084
Hunger-Kaninchen mit Lecithinfütterung.									
XXXI	1750	1400	3 Tg.	45,3	0,0684	0,0310	560	0,0280	0,1568
XXXII	1720	1380	3 „	47,5	0,0598	0,0284	552	0,0330	0,1822
Kaninchen mit Lecithin und gewöhnlicher Nahrung.									
X	1700	1650	—	54,900	0,0668	0,0367	660	0,0260	0,1716

[1]) Das Gewicht der Muskeln = 40% vom ursprünglichen Körpergewicht angenommen.

Tabelle XII.

Schweflige Säure im Harn.

Kaninchen	Barium-Sulfat aus SO_2	umgerechnet auf Calomel	Scheinbare Ameisensäure
XVIII	0,02	0,0404	0,0039
XII	0,0864	0,1746	0,0170
XIII	0,0240	0,0485	0,0047
XIX	0,0180	0,0363	0,0035
XX	0,0520	0,1051	0,0103

Zur Kenntnis der Toxine (Endotoxine) der Vibrionen.

Von

M. Arinkin (St. Petersburg).

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 16. August 1907).

Durch eine Reihe von Untersuchungen wissen wir, daß die Bakterien auf den tierischen Organismus nicht nur durch ihre Stoffwechselprodukte — Toxine im eigentlichen Sinne — wirken, sondern auch durch Gifte, die in ihrem Körper enthalten sind — Endotoxine. Das Studium letzterer war von besonderem Interesse bei denjenigen Bakterien, bei welchen keine Toxinbildung gefunden wurde, und deren Giftwirkung auf den Organismus auf Rechnung der Endotoxine zu setzen war. Zu diesen Bakterien gehören bekanntlich nach Pfeiffers grundlegenden Versuchen das Vibrio cholerae und die ihm nahestehenden Vibrionen. Bei Einführung sogar großer Quantitäten des Filtrates von jungen, sehr virulenten Reinkulturen des Choleravibrio beobachtet man keine Intoxikation.

Als Ausnahme erschien der dem Choleravibrio ähnliche Vibrio Naskin, welcher nach den interessanten Untersuchungen von Kraus in hohem Maße zur Bildung eigentlicher Toxine befähigt ist. Wir vermeiden es, hier die Endotoxinfrage im allgemeinen zu behandeln, sondern halten uns vornehmlich an die Befunde, die wir im Anschluß an die Arbeiten von Kraus und seinen Mitarbeitern an dem zu solchem Studium besonders geeigneten Vibrio Naskin erhoben haben. Gerade die Vibrionentoxine haben neuerdings durch die grundlegenden Untersuchungen von R. Kraus und seinen Mitarbeitern, die, von dem Vibrio Naskin ausgehend, sich weiterhin auf die eigenartigen Vibrionen von El Tôr und den Choleravibrio erstreckten, eine erhöhte Bedeutung ge-

wonnen. Lösliche Toxine treten seitdem wieder allgemein als theoretisch und praktisch wichtige Bakterienprodukte in den Vordergrund. Wir erinnern hier nur an die Versuche von Doerr[1]) über das Dysenterietoxin (daselbst auch Literatur) und die neuesten Versuche von Kraus und Stenitzer[2]), Meyer und Bergell[3]) und Aronson[4]) über das Typhustoxin. Letztere Autoren gelangen bezüglich des Verhältnisses der Gifte der Bouillonkulturen zu den aus den Bakterienleibern extrahierten Giften zu den unsrigen sehr ähnlichen Schlußfolgerungen. Aronsons Schlüsse bezüglich des Typhustoxins decken sich in allen wesentlichen Punkten mit denjenigen, zu denen wir hier gelangen.

Ich habe mich, der Anregung von Prof. Morgenroth folgend, in der vorliegenden Arbeit vor allem mit dem Hämolysin des Vibrio Naskin beschäftigt, da zu erwarten ist, daß auch hier der Reagensglasversuch vor allem bestimmt sein wird, Klarheit über die Bedingungen der Toxinproduktion der Bakterien, über die Gewinnung desselben aus den Kulturen und über seine Eigenschaften zu bringen.

Wir geben zunächst in Kürze die Beobachtungen von Kraus[5]) wieder. Nach intravenöser Einspritzung von ½—1 ccm einer Bouillonkultur erscheint beim Kaninchen fast momentan Kurzatmigkeit, Herzklopfen, Diarrhöe und nach 5—15 Minuten geht das Tier zugrunde; bei der Obduktion sind keine besonderen Veränderungen festzustellen. Kraus nimmt an, daß die Tiere dem unmittelbaren Einfluß des Toxins auf die Herzzentren erliegen, was in einer speziellen Arbeit von Rothberger bestätigt wurde. Ferner beobachtet der Autor die Erscheinung, daß Meerschweinchen nach intraperitonealer Einspritzung von Bouillonkultur des Vibrio Naskin nach 24 Stunden zugrunde gehen, ohne daß in ihrem Blute Vibrionen nachzuweisen sind[6]); Kaninchen nach einer intraperitonealen oder intravenösen Injektion von

---

[1]) Doerr, Das Dysenterietoxin. Jena 1907.
[2]) Kraus und Stenitzer, Wiener klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 6.
[3]) Meyer und Bergell, Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 18.
[4]) Aronson, Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 18.
[5]) Kraus, Centralbl. f. Bakt. **34**, Nr. 6, 1903.
[6]) Wir konnten dasselbe, und zwar besonders bei schon einige Zeit immunisierten Meerschweinchen, beobachten.

Agarkultur bleiben am Leben, und nur bei Mäusen gelang es, nach intraperitonealer Injektion Erscheinungen der Sepsis zu konstatieren. Kraus schließt hieraus, daß der Vibrio Naskin denjenigen Bakterien, welche auf den Tierorganismus vor allem durch Stoffwechselprodukte nach Art der Toxine wirken, gehört. Das Toxin wird durch Erhitzen (58°) zerstört; beim Filtrieren durch Reichel-Filter und Chamberland-Filter wird es 5—10 mal schwächer, durch Pukall-Filter geht das Gift überhaupt nicht.

Nach Kraus neutralisiert normales Serum von Ziege, Kaninchen, Pferd das Toxin, jedoch nicht sofort, sondern im Verlaufe einiger Zeit. Das Serum immunisierter Ziegen, in Mengen von 0,05 ccm, neutralisiert die tödliche Giftdosis momentan. Aus den Versuchen des Autors ergibt sich auch, daß das Immunserum nicht nur neutralisierende, sondern auch heilende Eigenschaften besitzt. Das spezifische Kaninchenserum wirkte viel schwächer; nur in einer Menge von 0,1 ist es imstande, das Toxin (letale Dosis) zu neutralisieren.

Es ist ferner festgestellt, daß der Vibrio Naskin ähnlich anderen Bakterien Hämolysin produziert (Kraus[1]), Kraus und Lipschütz[2])). Die größte Quantität von Hämolysin ist nach den Beobachtungen von Kraus und Ludwig[3]) in den 10tägigen Bouillonkulturen des Vibrio Naskin enthalten.

Anfangs benutzte ich nach dem Vorgang von Kraus mit Toluol abgetötete Bouillonkulturen verschiedenen Alters. Toluol wirkt nach den Beobachtungen von Kraus auf das Toxin und das Vibriolysin des Vibrio Naskin nicht zerstörend.

Die Hämolysinversuche wurden nach der üblichen Methode ausgeführt. Man bereitete wie gewöhnlich 5 prozentige, zweimal gewaschene Blutemulsion in 0,85 prozentiger Kochsalzlösung. Das Blut war frisch, nur in sehr seltenen Fällen wurden Emulsionen verwandt, welche 16—22 Stunden im Eisschranke aufbewahrt waren.

Nachdem den Blutkörperchen das Vibriolysin zugefügt war, wurden die Proben 2 Stunden in den Brutschrank bei 37° gestellt

---

[1]) Kraus, Wiener klin. Wochenschr. **1901**.

[2]) Kraus und Lipschütz, Idem. **1903**.

[3]) Kraus und Ludwig, Idem. **1902**.

und nachher bis zum nächsten Morgen im Eisschrank stehen gelassen.[1])

Zuerst war festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen dem Alter der Kultur (im Brutschrank aufbewahrt) und ihrer hämolytischen Kraft existiert. Zur Aufklärung dieser Frage wurden 1-, 2-, 4-, 6- und 12tägige Bouillonkulturen mit Toluol abgetötet und dann die hämolytischen Eigenschaften derselben untersucht.

Tabelle I.

Kaninchenblut 5% 1,0.

Quantität der Bouillonkultur in ccm	Resultate				
	1tägige Bouillon-kultur	2tägige Bouillon-kultur	4tägige Bouillon-kultur	6tägige Bouillon-kultur	12tägige Bouillon-kultur
2,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
1,0	komplett	stark	komplett	komplett	komplett
0.5	Spur	Kuppe	Spur	stark	komplett
0,25	Spur	Kuppe	Kuppe	wenig	stark
1,0 $^1/_{10}$	0	0	Kuppe	Kuppe	stark, Kuppe
0,5	0	0	0	0	Spur
0	0	0	0	0	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, besitzt die 12tägige Bouillonkultur die größte hämolytische Kraft, aber ein bedeutender Unterschied zwischen 6tägigen und 12tägigen Kulturen ist nicht zu beobachten.

Ferner wurde festgestellt, wie die roten Blutkörperchen verschiedener Tierspezies sich dem Vibriolysin gegenüber verhalten.

Aus der umstehenden Tabelle II ist ersichtlich, daß als die widerstandsfähigsten die Froschblutkörperchen, dagegen als am wenigsten widerstandsfähig die des Schafes erscheinen.

Wie schon erwähnt, hat Kraus den Einfluß des Normalserums der Ziege, des Pferdes und Kaninchens auf das Toxin des Vibrio Naskin untersucht. Der Autor fand, daß diese Sera nicht sofort Toxin neutralisieren, sondern erst eine Stunde nach der Vereinigung (37° im Brutschrank). Sodann stellten Kraus

[1]) Siehe Morgenroth, Methodik der Hämolyse usw. Gesamm. Arbeiten zur Immunitätsforschung. Herausgeg. v. Ehrlich, Berlin 1904.

Tabelle II.

Quantität 12tägiger Bouillonkultur in ccm	Hämolyse — Blut 5 %							
	Frosch	Taube	Mensch	Kaninchen	Ziege	Maus	Meer-schweinchen	Schaf
2,0	stark	stark	fast komplett	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
1,0	wenig	wenig	"	"	"	"	"	"
0,5	sehr wenig	sehr wenig	stark	"	"	"	"	"
0,25	Spürchen	Spürchen	Spur	stark	fast komplett	fast komplett	fast komplett	"
1,0 1/10	0	"	Kuppe	Spur	mäßig	stark	"	fast komplett
0,5	0	Kuppe	0	Spürchen	sehr wenig	sehr wenig	mäßig	stark
0,25	0	0	0	0	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Spur
1,0 1/100	0	0	0	0	0	"	"	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0

und Lipschütz[1]) fest, daß 2—1 ccm Normalkaninchenserums eine hämolytische Dosis von Vibriolysin des Vibrio Naskin neutralisiert. Solche Eigenschaften besitzt auch nach Beobachtungen Kraus' und Clairmonts[2]) das Schweineserum.

Auf Grund der oben angeführten Tatsachen war es wünschenswert, eingehend den Einfluß des Serums der verschiedenen Normaltiere auf das Hämolysin zu untersuchen. In unseren Versuchen wandten wir ausschließlich frisches Serum an, da Kraus gefunden hat, daß die Wirkung alten Serums auf das Toxin außerordentlich schwächer als die des frischen ist.

Verschiedene Serummengen wurden mit 0,5 ccm Vibriolysin, d. h. mit einer Menge, die völlige Auflösung der roten Blutkörperchen bewirkt, gemischt.

Zur Bindung des Toxins stellen wir die Röhrchen mit den Mischungen eine Stunde in den Brutschrank bei 37° und dann fügten wir 1 ccm einer 5 prozentigen Emulsion gewaschener Kaninchenblutkörperchen hinzu, darauf wurden die Röhrchen wieder auf zwei Stunden in den Brutschrank und zuletzt in den Eisschrank gestellt.

In einigen Fällen mischte man das Vibriolysin, das Serum und die 5 prozentige Emulsion der roten Blutkörperchen sofort, das Resultat war jedoch fast dasselbe wie bei längerer Digestion von Hämolysin und Serum.

Wie ersichtlich, wird das Vibriolysin am wenigsten durch das Menschenserum, Ziegenserum und Taubenserum neutralisiert, während die Sera von Meerschweinchen, Pferd, Schaf und Ochs die stärksten antihämolytischen Eigenschaften besitzen; die Wirkung des Kaninchenserums kann man eher zur ersten Gruppe zählen.

Wie schon erwähnt, können die hämolytischen Eigenschaften der (12 tägigen) Bouillonkultur nicht als starke bezeichnet werden. Ich versuchte nun eine Steigerung der Hämolysinprodukte durch Erhöhung der Virulenz. Nach zwei Mäuse- und einer Kaninchenpassage war die Virulenz des Vibrio bei peritonealer Infektion von Meerschweinchen erheblich gesteigert, die hämolytische Wirkung 6 tägiger Bouillonkulturen war jedoch die alte geblieben.

Entgegen meinen Erwartungen zeigten nun einige orientierende Versuche, daß es gelingt, aus der Bakterienmasse von

---

[1]) Kraus und Lipschütz, Wiener klin. Wochenschr. **1903**, Nr. 35.

[2]) Kraus und Clairmont, Wiener klin. Wochenschr. **1900**, Nr. 3; **1901**, Nr. 42.

Tabelle III.

Quantität: Blutserum in ccm	Quantität 12 tägiger Bouillon-kultur in ccm	Serum von							
		Mensch	Ziege	Taube	Kaninchen	Ochs	Pferd	Schaf	Meer-schweinchen
1,0	0,5	0	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe
0,5	0,5	Spur	stark	stark	wenig	„	Spürchen	Spürchen	Spürchen
0,25	0,5	stark	fast kompl.	fast kompl.	stark	Spürchen	sehr wenig	wenig	wenig
1,0 $^{1}/_{10}$	0,5	komplett	komplett	komplett	fast kompl.	wenig	wenig	stark	mäßig
0,5	0,5	„	„	„	komplett	stark	mäßig	„	stark
0,25	0,5	„	„	„	„	„	stark	fast kompl.	fast kompl.
1,0 $^{1}/_{100}$	0,5	„	„	„	„	komplett	„	komplett	„
0,5	0,5	„	„	„	„	„	komplett	„	komplett
0	0,5	„	„	„	„	„	„	„	„

Agarkulturen des Vibrio Naskin stärkere Hämolysine zu extrahieren, als in den Bouillonkulturen beobachtet wurden. Das Hämolysin der Bouillonkultur gehört nach den sorgfältigen Untersuchungen von Kraus und Clairmont, sowie Kraus und Ludwig zweifellos zu den Toxinen im eigentlichen Sinne, von denen man annimmt, daß sie als wirkliche Sekretionsprodukte der Bakterienzelle von dieser in das umgebende flüssige Medium abgegeben werden. Der Übergang von Hämolysinen in großen Mengen binnen sehr kurzer Zeit aus den Agarkulturen an eine frisch zugefügte Flüssigkeit ließ es zunächst nicht als annehmbar erscheinen, daß auch hier Toxine derselben Art vorliegen. Es war vielmehr der Gedanke das Nächstliegende, daß es sich um Endotoxine im Sinne Pfeiffers handle, d. h. toxische Substanzen, die physiologischerweise nicht in die umgebende Flüssigkeit sezerniert werden, sondern die einen wesentlichen Bestandteil der Leibessubstanz der Mikroorganismen bilden und für deren Löslichwerden eine Desintegration derselben die vornehmste Bedingung ist. Bekanntlich konnte Pfeiffer seine bedeutsamen Schlüsse auf die Existenz der Endotoxine des Choleravibrio aus dem Verhalten desselben bei Einführung in die Bauchhöhle des Meerschweinchens ziehen. Hier wurde der Bakterienkörper aufgelöst und die hierdurch frei gewordenen, in der Peritonealflüssigkeit gelösten und dann resorbierten Endotoxine führten den Tod des Tieres resp. die schwere typische Erkrankung herbei. Ein Endotoxin, wie es allem Anschein nach hier vorlag, das ohne besondere Schwierigkeiten in vitro zu gewinnen und durch quantitativ bestimmbare hämolytische Wirkungen zu messen war, mußte als ein besonders günstiges Objekt für das Studium dieser praktisch und theoretisch so wichtigen Bakterienprodukte erscheinen.

Daß es sich nicht um ein Hämolysin handle, welches etwa den Bakterienleibern nur anhaftet oder in den geringen Flüssigkeitsmengen der Agarkultur in konzentrierter Form vorhanden ist, ergibt sich daraus, daß eine Suspension der Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung, die, wie weiterhin hervorgeht, ein günstiges Medium für die Wirkung des Hämolysins darstellt, gar keine hämolytischen Eigenschaften zeigt.

Eine eintägige, bei 37° gewachsene Agarkultur des Vibrio Naskin, welche nach den gleich zu besprechenden Extraktions-

methoden ein stark wirkendes Hämolysin lieferte, wurde mit 10 ccm einer 0,85prozentigen Kochsalzlösung übergossen, die Bakterien gleichmäßig verteilt, das Ganze in ein Fläschchen abgegossen, mit Toluol überschichtet, öfter geschüttelt und blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen.[1]) Eine Prüfung der Flüssigkeit mit Kaninchenblut, in der üblichen Weise angestellt, ergab, daß selbst 1 ccm keine Spur Hämolyse herbeiführte. Eine sehr häufige Wiederholung dieses Versuchs ergab stets das gleiche Resultat, daß physiologische Kochsalzlösung niemals ein Hämolysin aus der Kultur aufnimmt oder extrahiert.

Ganz anders gestaltete sich das Ergebnis, als der Kochsalzlösung etwas Kaliumcarbonat zugesetzt wurde, so daß der Gehalt etwa $^{n}/_{35}$ war.

Es wurde die Agarkultur in 10 ccm der Lösung möglichst gleichmäßig verteilt, Toluol zugesetzt, 2—3 Stunden lang bei Zimmertemperatur öfter geschüttelt und hierauf sofort ein hämolytischer Versuch mit Kaninchenblut ausgeführt.

Ein gleichzeitiger Kontrollversuch mit einer entsprechenden Kaliumcarbonatlösung zeigte, daß diese in den in Betracht kommenden Verdünnungen keine Hämolyse hervorbringt. Das Resultat des Versuches ist aus folgender Tabelle zu ersehen.

Menge des alkalischen Extraktes	Hämolyse
1,0 $^{1}/_{10}$	komplett
0,5	komplett
0,25	komplett
1,0 $^{1}/_{100}$	stark
0,5	wenig
0,25	Spur
0	0

Es zeigt sich also, daß in alkalische Kochsalzlösung innerhalb weniger Stunden ein sehr wirksames Hämolysin übergeht.

Einige Versuche, welche in analoger Weise mit $^{n}/_{10}$ Kalilauge und Natronlauge angestellt wurden, führten nun im Gegensatz zu dem eben beschriebenen Versuch zu einem vollkommen negativen

[1]) Es wurde in zahlreichen Versuchen festgestellt, daß 24stündige, selbst schon zweistündige Einwirkung von Toluol eine sichere vollständige Abtötung der Vibrionen herbeiführt.

Ergebnis. Es erschien wenig wahrscheinlich, daß etwa das stärkere Alkali überhaupt kein Hämolysin extrahiere, sondern sich wie Kochsalzlösung verhalte, vielmehr war am nächstliegenden die Annahme, daß hier eine rasche Zerstörung des Hämolysins stattfinde. Da die Kenntnis dieser Verhältnisse die Vorbedingung einer weiteren Ausarbeitung der Extraktionsmethode bildete, wurden zunächst Versuche zur Entscheidung dieser Frage angestellt und vor allem vergleichende Extraktionen des Hämolysins mit verschiedenen Alkalien ausgeführt. Um die zu vermutende Zerstörung von Anfang an möglichst einzuschränken, wurde die Zeit der Alkaliwirkung kurz bemessen — 30 Minuten — und nach Ablauf dieser Zeit mit Salzsäure neutralisiert. Wir geben zunächst einen derartigen Versuch wieder, der, mit einheitlichem Material angestellt, mit einem Male die Beziehungen aufklärt.

Es wurden stets zu einem Röhrchen der eintägigen Agarkultur 10 ccm verschieden konzentrierter Lösungen der verschiedenen Alkalien in Wasser zugefügt, und zwar wurde, um vergleichbare Werte zu erhalten, stets von Normallösungen ausgegangen. Die Aufschwemmungen blieben eine halbe Stunde unter häufigem Schütteln bei Zimmertemperatur und wurden hierauf mit entsprechend verdünnter Hl-Lösung neutralisiert (neutral auf Lackmuspapier), hierauf wurde so viel Kochsalz, daß der Gesamtgehalt 0,5% betrug, und Toluol zugesetzt, wieder geschüttelt und nach zwei Stunden der hämolytische Versuch mit 5% Kaninchenblut ausgeführt.

Aus diesen Versuchen, die bei zweimaliger Wiederholung dasselbe Resultat ergaben, können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. $^1/_{10}$ Normallösung von Kal. caustic. und Natr. caust. ergeben gar kein Hämolysin, während $^1/_{100}$ Normallösung sehr stark, und zwar für Natrium und Kalium etwa gleich extrahiert. Mit der Konzentrationsminderung der Lösung auf $^n/_{1000}$ fällt die Extraktionsfähigkeit für Vibriolysin erheblich, bei Natrium in höherem Grade als bei Kalium.

2. $^1/_{10}$ Normallösungen von Kalium- und Natriumcarbonat extrahieren reichlich Vibriolysin. Mit der Herabsetzung der Konzentration dieser Salze bis $^1/_{100}$ und bis $^1/_{1000}$ der Normallösung fällt erheblich auch die Extraktionsfähigkeit.

3. $^1/_{10}$ Normallösung von Ammoniumcarbonat extrahiert das Vibriolysin aus der Agarkultur des Vibrio Naskin erheblich schwächer als dieselben Salze des Kalium und Natrium. Durch

Tabelle IV.

Die Quantität von Hämolysin in ccm	Natrium caust.			Kalium caust.			Kalium carbon.			Natrium carbon.			Ammonium carbon.			0,5% Kochsalzlösung
	$^1/_{10}$-norm.	$^1/_{100}$-norm.	$^1/_{1000}$-norm.	$^1/_{10}$-norm.	$^1/_{100}$-norm.	$^1/_{1000}$-norm.	$^1/_{10}$-norm.	$^1/_{100}$-norm.	$^1/_{1000}$-norm.	$^1/_{10}$-norm.	$^1/_{100}$-norm.	$^1/_{1000}$-norm.	$^1/_{10}$-norm.	$^1/_{100}$-norm.	$^1/_{1000}$-norm.	
1,0	0	komplett	kompl.	0	komplett	komplett	kompl.	komplett	komplett	komplett	kompl.	komplett	komplett	kompl.	komplett	0
0,5	0	"	"	0	"	"	"	"	fast kompl.	"	"	"	"	"	"	0
0,25	0	"	stark	0	"	"	"	"	stark	"	"	fast kompl.	"	"	fast kompl.	0
1,0 $^1/_{10}$	0	"	Spur	0	"	fast kompl.	"	fast kompl.	wenig	"	stark	sehr wenig	fast kompl.	stark	stark	0
0,5	0	"	Kuppe	0	fast kompl.	stark	"	sehr wenig	Spur	"	Spur	Kuppe	wenig	wenig	Spur	0
0,25	0	fast kompl.	"	0	stark	sehr wenig	"	Kuppe	Kuppe	fast kompl.	0	"	Kuppe	Spur	0	0
1,0 $^1/_{100}$	0	Spur	0	0	wenig	Kuppe	stark	0	0	Kuppe	0	0	0	Kuppe	0	0
0,5	0	0	0	0	Spur	0	wenig	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,25	0	0	0	0	0	0	Spur	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Herabsetzung der Konzentration der Lösung bis auf $^n/_{100}$, $^n/_{1000}$ wird die Extraktionsfähigkeit stark abgeschwächt.

Eine weitere Versuchsreihe, die sich hieran anschloß, zeigte die Richtigkeit der Vermutung, daß die kaustischen Alkalien in höherer Konzentration deshalb scheinbar kein Hämolysin extrahieren, weil dasselbe rasch zerstört wird.

In Reagensröhrchen werden wechselnde Mengen $n/_{10}$-NaOH (in physiologischer Kochsalzlösung) und überall so viel 0,85 prozentiger Kochsalzlösung zugefügt, daß das Volumen 1,0 ccm beträgt. Hierauf werden je 0,5 ccm $^1/_{10}$ eines sehr wirksamen, neutral reagierenden Vibriolysins zugefügt und nach einer halben Stunde (Zimmertemperatur) mit $n/_{10}$-HCl neutralisiert. Dann wird je 1,0 ccm 5 prozentiges Kaninchenblut zugefügt.

Tabelle V.

Quantität $^1/_{10}$ normaler NaOH-Lösung in ccm	Quantität des Hämolysins in ccm	Hämolyse
1,0 $^1/_{10}$ normal	0,5 $^1/_{10}$	0
0,5	0,5 $^1/_{10}$	0
0,25	0,5 $^1/_{10}$	0
1,0 $^1/_{100}$	0,5 $^1/_{10}$	0
0,5	0,5 $^1/_{10}$	komplett
0,25	0,5 $^1/_{10}$	komplett
0	0,5 $^1/_{10}$	komplett
0	0	0

Ein Gehalt von $^n/_{150}$ Natronlauge ist, wie aus der Tabelle zu ersehen, schon genügend, um die hämolytischen Fähigkeiten der Vibriolysinlösung vollständig zu vernichten. Auf Grund dessen mußte angenommen werden, daß in $^n/_{10}$ Lauge das Vibriolysin wohl extrahiert, aber in gleichem Maße wieder zerstört wird, und daß $^n/_{100}$ Lauge, eine Konzentration, bei der wir die stärkste Hämolysinextraktion erhalten haben, noch nicht das Optimum bilden dürfte. Man durfte annehmen, daß die stärkste Vibriolysinextraktion durch Kal. caust. zu erhalten sein wird durch eine Lösung, die zwischen $^n/_{100}$ liegt, wo die Zerstörung noch erheblich mitwirkt und zwischen $^n/_{1000}$, wo offenbar die Extraktion eine ungenügende wird. Aus diesem Grunde wurde

auch $^n/_{200}$ und $^n/_{400}$ Natronlauge zu einem Extraktionsversuch verwendet.

Tabelle VI.

Quantität des Hämolysins in ccm	Hämolyse	
	$n/_{200}$-NaOH	$n/_{400}$-NaOH
1,0	komplett	komplett
0,5	"	"
0,25	"	"
1,0 $^1/_{10}$	"	fast komplett
0,5	"	"
0,25	fast komplett	stark
1,0 $^1/_{100}$	stark	mäßig
0,5	wenig	wenig
0,25	Spur	Spur
0	0	0

Das Resultat ist bei $^n/_{200}$ um ein weniges besser als bei $n/_{100}$ (s. Tabelle), bei $^n/_{400}$ ist schon eine ausgesprochene Verringerung zu bemerken. Wahrscheinlich kann man bei dem Optimum der Alkalikonzentration für die Extraktion eine gewisse Zerstörung des Hämolysins nicht vermeiden. Für die von uns gewählten Bedingungen ist das Optimum $^n/_{200}$ NaOH. Bei KOH liegen die Verhältnisse, wie entsprechende Versuche ergaben, analog. Wenn es darauf ankommt, eine möglichst vollkommene Ausbeute zu erzielen, müssen jedenfalls noch Zeitdauer und Temperatur mannigfach variiert werden.

Nachdem, wie bereits berichtet wurde, 0,85prozentige Kochsalzlösung keine Spur des Hämolysins extrahiert und auch Aqua destillata, wie mehrere Versuche zeigten, nur äußerst geringfügige Mengen zu extrahieren vermag, ergibt sich als ein besonderer Vorzug der geschilderten Extraktion durch Alkali von bekannter Konzentration, daß der Vorgang in jedem Moment durch Neutralisation unterbrochen werden kann und so ein genaues quantitatives Studium und vor allem eine Ermittlung der Optima mit einer sehr einfachen Technik möglich ist, da man der Schwierigkeit enthoben ist, die Bakterien selbst aus der Flüssigkeit zu entfernen. Die Entfernung der Bakterien macht bekanntlich gerade

bei der Toxingewinnung besondere Schwierigkeiten, denn Zentrifugieren ist langwierig und gelingt nur unvollkommen, und bei Filtration, besonders kleiner Mengen, sind die Verluste groß und inkonstant, so daß sie vergleichbare Versuchsreihen unmöglich machen.

Wir fanden im Verlauf unserer Untersuchungen, daß sowohl alkalische wie neutrale Bouillon sehr gute Extraktionsmittel für das Vibriolysin bilden, es kommt aber hier als ungünstiges Moment die Unmöglichkeit der Abgrenzung der Wirkung dazu, da die Möglichkeit einer andauernden Extraktion, wenn auch in geringerem Maße, sogar bis zum Abschluß des hämolytischen Versuches gegeben ist. Immerhin liegt in diesem Verhalten der Bouillon ein erhebliches theoretisches Interesse, da offenbar die in derselben enthaltenen Salze für die Extraktion maßgebend sind. Es ist hier wohl vor allem an die Phosphate zu denken, und wir beabsichtigen, weiterhin diese Verhältnisse zu untersuchen. Zunächst lassen wir einige Beispiele für die Extraktion des Hämolysins durch Bouillon folgen.

Tabelle VII.

Quantität des Hämolysins in ccm	Hämolyse	
	1 täg. Agarkultur gewasch. 10 ccm neutr. Bouill.	1 täg. Agarkultur gewasch. 10 ccm alkalisch. Bouill.
1,0	komplett	komplett
0,5	"	"
0,25	"	"
1,0 1/10	"	"
0,5	"	"
0,25	"	"
1,0 1/100	"	"
0,5	stark	stark
0,25	wenig	wenig
1,0 1/1000	Spur	Spur
0	0	0

Die starke Wirksamkeit der extrahierten Hämolysine ist ohne weiteres ersichtlich und die erste Tabelle läßt erkennen, daß hier nicht die alkalische Reaktion, sondern ein anderes Prinzip maßgebend sein muß. Bemerkenswert ist die geringere Ausbeute der viertägigen Kultur.

Tabelle VIII.

Quantität des Hämolysins in cmm	Hämolyse	
	1 täg. Agarkultur gewasch. 10 ccm steril. alkal. Bouill. u. mit Toluol abgetötet.	4 täg. Agarkultur gewasch. 10 ccm steril. alkal. Bouill. u. mit Toluol abgetötet.
1,0	komplett	komplett
0,5	"	"
0,25	"	"
1,0 $^{1}/_{10}$	"	"
0,5	"	"
0,25	"	stark
1,0 $^{1}/_{100}$	"	wenig
0,5	stark	Spur
0,25	wenig	0
0	0	0

Eine sehr merkwürdige Beobachtung möchten wir noch an dieser Stelle anführen, ohne daß wir eine ausreichende Erklärung für dieselbe geben können. Extrahiert man nämlich mit der gleichen Menge Bouillon drei Agarkulturen, so ist die Ausbeute an Hämolysin nicht größer als bei der Extraktion einer einzigen Kultur. Vielleicht kommt hier eine ziemlich begrenzte Löslichkeit des Hämolysins, die verschiedene Ursachen haben kann, in Betracht. Die Frage bedarf noch genauerer Untersuchung.

Daß für die Extraktion des Hämolysins die anorganischen Bestandteile der Bouillon maßgebend sind, zeigen folgende Versuche.

Es wurden 10 ccm Bouillon neutraler Reaktion mit Vorsicht im Porzellantiegel verascht und darauf aus der Asche eine Wasserextraktion gemacht (10 ccm Wasser). Die Extraktionsflüssigkeit wurde durch ein Papierfilter filtriert und darauf zu einer eintägigen Agarkultur hinzugefügt. Nachdem die Bakterienemulsion abgegossen und die Vibrionen durch Toluol abgetötet waren, wurden mit dieser Emulsion folgende hämolytischen Experimente angestellt und natürlich gleichzeitig erprobt, daß nicht das Wasserextrakt aus der Asche an und für sich hämolytische Eigenschaften für die roten Blutkörperchen des Kaninchens besitzt.

Tabelle IX.

Quantität 1 tägiger Agarkultur, gewaschen mit verdünnter Asche von Bouillon in ccm	Hämolyse
1,0 $^{1}/_{10}$	komplett
0,5	"
0,25	"
1,0 $^{1}/_{100}$	stark
0,5	wenig
0,25	Spur
0	0

Es ist ersichtlich, daß das Wasserextrakt aus der Bouillonasche das Hämolysin dem Bakterienkörper entzieht, ebenso wie die Bouillon selbst. Es erschien noch wünschenswert zu erfahren, wie sich der hauptsächlichste organische Bestandteil der Bouillon zur Extraktion verhält. Die Versuche mit 0,5 prozentiger Peptonlösung in 0,5 prozentiger Kochsalzlösung ergab folgendes Resultat:

Tabelle X.

1 tägige Agarkultur, gewaschen, 10 ccm 0,5 proz. Peptonlösung in 0,5 proz. Kochsalzlösung in ccm	Hämolyse
1,0 1/10	sehr wenig
0,5	Spur
0,25	„
1,0 1/100	0
0,5	0
0,25	0
0	0

Auf Grund dieser Tabelle darf man annehmen, daß das Pepton jedenfalls nur in sehr geringem Maße an der Extraktion beteiligt ist. Den größten Einfluß auf die Extraktion haben somit die anorganischen Bestandteile der Bouillon, und es ist hier vor allem an die in großer Menge vorhandenen Phosphate zu denken.

Es ist nach den bisherigen Beobachtungen über die Extraktion der Hämolysine aus Agarkulturen kein Zweifel, daß zur Freimachung eine erhebliche chemische Schädigung der Vibrionen selbst notwendig ist, und man geht wohl nicht zu weit, wenn man auch ähnliche Vorgänge für den Übergang des Hämolysins in die Bouillonkulturen verantwortlich macht, die zum mindesten mit der eigentlichen Sekretion konkurrieren. Daß die Bouillon, in welcher die Bakterien gewachsen sind, weniger Hämolysine aus denselben extrahiert, als die den Agarkulturen nachträglich zugesetzte Bouillon, dürfte auf mehrere Ursachen zurückzuführen sein. Vor allem ist offenbar die Gesamtmasse der Bakterien in einem Bouillonröhrchen weit geringer als auf der Agarfläche, ferner kommt beim Stehen der Bouillon bei 37° im Laufe von vielen Stunden oder Tagen eine Abschwächung des Hämolysins

zustande und endlich können beim Wachstum der Bakterien gebildete und in die Bouillon abgegebene Substanzen verschiedenster Art die Extraktionsfähigkeit derselben ungünstig beeinflussen.

Eine stärkere Schädigung der auf Agar gewachsenen Bakterien bei Überführung in Bouillon, im Vergleich zur 0,85 prozentigen Kochsalzlösung läßt auch die mikroskopische Beobachtung erkennen. In hängenden Tropfen von eintägigen Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung konnten sehr selten unbewegliche Vibrionen bemerkt werden; es genügte jedoch anstatt eines Tröpfchens physiologischer Kochsalzlösung ein Tröpfchen Bouillon (ohne Unterschied, ob alkalischer oder neutraler Reaktion) zu nehmen und zu diesem Tröpfchen aus derselben Agarkultur Bakterien hinzuzufügen, man konnte dann schon nach 1½ bis 2 Stunden viele Vibrionen, die ihre Beweglichkeit verloren hatten, und sogar Zerfall in Körnchen sehen. So kann man aus diesen Versuchen die verschiedenen Beziehungen des Vibrio Naskin zur physiologischen Kochsalzlösung und zur gewöhnlichen Nährbouillon ersehen.

Welche Bedeutung gröberen Schädigungen des Bakterienleibes für den Austritt des Hämolysins zukommt, ist am klarsten aus folgendem Versuch zu ersehen, der zeigt, daß nach mechanischer Läsion der Bakterienleiber auch in physiologische Kochsalzlösung reichlich Hämolysin übergeht.

Man nahm vier eintägige Agarkulturen des Vibrio; zu einer derselben wurden 10 ccm Bouillon alkalischer Reaktion hinzugesetzt, zur zweiten 10 ccm Bouillon neutraler Reaktion, zur dritten und vierten je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Nachdem man dann sorgfältig die Bakterien von der Agaroberfläche gewaschen, goß man drei der erhaltenen Emulsionen in sterilisierte Gläschen, dagegen aus dem vierten Röhrchen in die Reibschale, wo die Emulsion mit viel Seesand 10 Minuten verrieben wurde, sodann wurde gut zentrifugiert und darauf abgegossen.

Zu allen vier Gläschen wurde Toluol hinzugefügt. Untersuchung nach zwei Stunden.

Aus folgender Tabelle XI ersehen wir, daß die physiologische Kochsalzlösung das Vibriolysin aus der Agarkultur nicht auszieht, während die Bouillon (neutraler oder alkalischer Reaktion) und 0,85 prozentige Kochsalzlösung bei Zerreiben der Bakterien mit Sand das Vibriolysin aus der Agarkultur extrahieren.

Tabelle XI.

Quantität des Hämolysins in ccm	Hämolyse			
	1 täg. Agar-kult. gewasch. 10 ccm neutr. Bouill.	1 täg. Agar-kult. gewasch. 10 ccm alkal. Bouill.	1 täg. Agar-kult. gewasch. 10 ccm Koch-salzlösung	1 täg. Agarkult. gewasch. 10 ccm Kochsalzlösung u. m. Sand verrieben
1,0	komplett	komplett	0	komplett
0,5	"	"	0	"
0,25	"	"	0	"
1,0¹/₁₀	"	"	0	"
0,5	"	"	0	stark
0,25	"	"	0	wenig
1,0¹/₁₀₀	"	"	0	Spur
0,5	stark	stark	0	0
0,25	wenig	wenig	0	0
1,0¹/₁₀₀₀	Spur	Spur	0	0
0	0	0	0	0

Nachdem wir mit den Extraktionsmethoden des Vibriolysins aus der Agarkultur des Vibrio Naskin bekannt geworden, wandten wir uns dem Studium der Eigenschaften dieses Vibriolysins zu. Schon früher haben wir gesehen, daß ätzende Alkalien in hoher Konzentration das Hämolysin zerstören.

Es war auch von Interesse, aufzuklären, wie des Hämolysins des Vibrio sich verschiedenen Temperaturen gegenüber verhält. Dazu wurden gleiche Mengen Hämolysin genommen, das aus Agarkultur mit 10 ccm Bouillon extrahiert war und ½ Stunde bis 40°, 50°, 53°, 56°, und 70° im Wasserbad erwärmt.

Tabelle XII.

Quantität des Hämolysins	Resultat nach ¹/₂ stünd. Erwärmung auf				
	40°	50°	53°	56°	70°
2,0	komplett	komplett	komplett	0	0
1,0	"	"	"	0	0
0,5	"	"	"	0	0
0,25	"	"	"	0	0
1,0¹/₁₀	"	"	"	0	0
0,5	"	"	"	0	0
0,25	"	"	"	0	0
1,0¹/₁₀₀	"	"	fast komplett	0	0
0,5	stark	stark	Spur	0	0
0,25	wenig	wenig	Kuppe	0	0
1,0¹/₁₀₀₀	Spur	Kuppe	0	0	0
0	0	0	0	0	0

Die Thermalabilität des Hämolysins entspricht derjenigen eines echten Toxins, sie steht etwa auf einer Stufe mit der der Komplemente. Auffallend ist der jähe Sprung zwischen 53° und 56°. Während bei 53° etwa die Hälfte des Hämolysins erhalten bleibt, ist nach Erwärmen auf 56° weit weniger als $^1/_{200}$ vorhanden. Unser Befund entspricht demjenigen von Kraus bei Bouillonkultur, der eine Zerstörung bei 58° fand.

Gleichfalls in Übereinstimmung mit den Erfahrungen von Kraus zeigte sich bei Filtration der Giftlösungen durch Reichel- und Berkefeld-Filter ein sehr erheblicher Verlust, überhaupt kein Hämolysin passierte Chamberland-Filter F. Interessant ist es, daß die Reste im Filter ebenso hämolysieren wie das nicht filtrierte Vibriolysin, d. h. es findet keine Konzentrationserhöhung des Hämolysins statt, aus welchem Grunde zu schließen ist, daß es in den Filterwänden zurückgehalten wird.

Bevor wir zu den Immunisierungsversuchen übergehen, sei noch kurz über die toxische Wirkung der Agarkulturen des Vibrio berichtet. Das Resultat sämtlicher Versuche ist dahin zusammenzufassen, daß es sich auch bei der allgemeinen Giftwirkung um ein echtes Endotoxin handelt, dessen Verhalten in allen Stücken an Pfeiffers klassische Versuche an Choleravibrionen erinnert.

Ein Meerschweinchen erhält intraperitoneal $^1/_{100}$ einer eintägigen Agarkultur in 1 ccm 0,85 prozentigem NaCl. Nach 1½ Stunden Auftreten von Asphyxie, Herzklopfen, Durchfall, völlige Prostration. Nachts exitus.

Aus Herzblut Reinkultur des Vibrio.

Kaninchen. Intraperitoneal ½ Agarkultur in 2 ccm 0,85 prozentigem NaCl. Nach 2 Stunden starke Asphyxie, Herzklopfen, Schläfrigkeit, Diarrhöe, Parese der hinteren Extremitäten. Nach 3 Stunden Krämpfe klonischen und tonischen Charakters und nach kurzer Zeit exitus.

Die Sektion ergab nichts Besonderes. Aus dem Herzen wurde die Reinkultur des Vibrio erhalten.

Maus. Um 5 Uhr intraperitoneale Injektion von 0,2 ccm $^1/_{100}$ einer eintägigen Agarkultur in physiologischer Kochsalzlösung. Nachts exitus.

Maus. Intraperitoneal 0,2 ccm $^1/_{1000}$ eintägiger Agarkultur. Nachts exitus.

Die Sektion beider Mäuse ergab nichts Besonderes. Aus dem Herzblut Reinkulturen des Vibrio. Die letale Dosis der lebenden Agarkulturen ist für Meerschweinchen 1,10 $^1/_{100}$ und für Mäuse 0,2 $^1/_{1000}$.

Bei intraperitonealer Injektion von Agarkulturen bei Kaninchen, Meerschweinchen und Mäusen beobachtet man außer den Erscheinungen der Sepsis auch eine starke Intoxikation, die von Asphyxie, Herzklopfen, Diarrhöe, tonischen und klonischen Krämpfen begleitet wird.

Um sich davon zu überzeugen, daß der Tod der Tiere durch reine Intoxikation mit dem im Bakterienkörper enthaltenen Endotoxin, das frei wird bei der Zerstörung der Vibrionen, hervorgerufen wird, wurden Experimente mit eintägigen Agarkulturen unternommen, die mit 10 ccm steriler Bouillon abgewaschen und mit Toluol abgetötet waren.

Maus. Subcutane Injektion 0,5 $^1/_{10}$ Agarkultur. Nachts exitus. Die Sektion ergab nichts Besonderes.

Maus. Intraperitoneal 0,25 $^1/_{10}$ Agarkultur. Nachts exitus. Sektion ergibt nichts Besonderes.

In beiden Fällen wurde die Aussaat aus dem Blute des Herzens (Agar und Bouillon) gemacht. Die Nährböden bleiben steril.

Im Gegensatz zu den eben angeführten Beobachtungen am Hämolysin ergibt sich eine entsprechende Erhöhung der Toxizität, wenn man in einem bestimmten Quantum Flüssigkeit mehrere Agarkulturen aufschwemmt. Es hängt dies vielleicht mit den veränderten Bedingungen im Tierkörper zusammen, denn es ist anzunehmen, daß hier eine weit vollkommenere Extraktion des Toxins stattfindet als in vitro.

Wir gehen nunmehr zur Beschreibung derjenigen Experimente über, die zwecks Immunisierung unternommen wurden.

Unsere Immunisierungsversuche mußten vor allem darauf gerichtet sein, festzustellen, ob das aus den Bakterienleibern extrahierte Hämolysin auch darin sich wie ein echtes Toxin verhält, daß es die Bildung eines Antihämolysins im Tierkörper auslöst. Von dem Hämolysin der Bouillonkulturen kennen wir bereits durch Kraus die Fähigkeit der Antitoxinbildung, und es war zu erwarten, daß sich das aus den Agarkulturen extrahierte Gift auch in dieser Hinsicht analog verhalte. Daß dies der Fall ist, ergibt sich aus der folgenden Tabelle, welche das Verhalten der Sera zweier Kaninchen zeigt, von denen das eine mit Bouillonkulturen, das andere mit in Bouillon aufgeschwemmten und durch Toluol abgetöteten Agarkulturen vorbehandelt ist.

Kaninchen. Subcutan.

			Körpergewicht
9. März.	0,5 ccm	einer 12täg. Bouillonkultur (Toluolabtötung)	1420
14. „	0,8 ccm	„	1420
20. „	1,2 ccm	„	1510
27. „	1,6 ccm	„	1450
2. April.	2,0 ccm	„	1540
6. „	2,5 ccm	„	1670
12. „	3,0 ccm	„	1650
22. „	4,0 ccm	„	1650
29. „	Blutentnahme.		

Kaninchen. Subcutane Injektion vom 28. März bis 22. April mit Unterbrechungen von 5—7 Tagen in steigender Dosis einer eintägigen Agarkultur in Bouillon (10 ccm), durch Toluol abgetötet.

Im ganzen wurden 13,0 $^1/_{10}$ Agarkultur eingespritzt. 7 Tage nach der letzten Injektion wurde Blut für das Serum entnommen. Die Sera wurden in verschiedenen Mengen zugesetzt, denen eine Menge der Vibriolysinlösung hinzugefügt (extrahiert aus Agarkultur durch 10 ccm Bouillon), die fähig war, 2 ccm einer 5prozentigen Kaninchenblutkörperchenemulsion aufzulösen. Hierauf wurden die Gläschen zwei Stunden in den Brutschrank gestellt und sodann zu allen Gläschen à 1 ccm 5proz. Blutkörperchenemulsion hinzugesetzt.

Tabelle XIII.

Quantität von Blutserum in ccm	Quantität von Hämolysin in ccm	Hämolyse – Kaninchensera: normal	immunisierter: 12tägige Bouillonkultur		1tägiger Agarkultur: gewaschen, erwärmt auf 70°	1tägiger Agarkultur: steril. Bouillon, abgetötet mit Toluol
1,0	0,5 $^1/_{10}$	wenig	0	0	wenig	0
0,5	0,5 $^1/_{10}$	stark	0	0	„	0
0,25	0,5 $^1/_{10}$	fast kompl.	0	0	stark	0
1,0 $^1/_{10}$	0,5 $^1/_{10}$	komplett	0	0	komplett	0
0,5	0,5 $^1/_{10}$	„	0	0	„	0
0,25	0,5 $^1/_{10}$	„	0	0	„	0
1,0 $^1/_{100}$	0,5 $^1/_{10}$	„	Spur	sehr wenig	„	0
0,5	0,5 $^1/_{10}$	„	stark	stark	„	Spur
0,25	0,5 $^1/_{10}$	„	fast kompl.	„	„	sehr wenig
1,0 $^1/_{1000}$	0,5 $^1/_{10}$	„	komplett	fast kompl.	„	wenig
0	0,5 $^1/_{10}$	„	„	komplett	„	komplett
0	0	0	0	0	0	0

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, genügt schon eine kurze Vorbehandlung mit geringen Mengen abgetöteter Agarkulturen. um eine kräftige antihämolytische Wirkung des Serums (normales Serum übt, wie aus der Tabelle ersichtlich, nur einen sehr geringen Schutz aus) zu erzielen.

Aus der Tabelle ist gleichzeitig zu ersehen, daß Vorbehandlung mit durch Toluol abgetöteten Bouillonkulturen zu demselben Resultat führt, während ½ Stunde auf 70° erwärmte Agarkulturen (in Bouillon aufgeschwemmt), deren Hämolysin unwirksam geworden ist, kaum mehr irgend welche Antihämolysinbildung auslösen. Die Antigene für die Agglutinine und Präcipitine werden bei der angewandten Temperatur nicht zerstört. Wir werden auf diese Verhältnisse noch an anderer Stelle zurückkommen.

Die Fähigkeit, antibakterielle Antikörper zu erzeugen, geht, gleichfalls bei 70° nicht verloren. Dies zeigt die folgende Tabelle, die zugleich kurz Aufschluß über die beobachteten Phänomene gibt, auf die wir gleichfalls später zurückkommen werden.

Tabelle XIV.

Meerschweinchen von Körpergewicht

210 g	220 g	210 g
I. $0{,}2\,^1/_{10}$ eintäg. Agarkult. + $0{,}2\,^1/_{10}$ Serum von Kaninchen, immunisierten, getötet durch Erhitzen (70°) v. Bakterien Versuch 47	II. $0{,}2\,^1/_{10}$ Kultur + $0{,}2\,^1/_{100}$ Serum	III. $0{,}2\,^1/_{10}$ Kultur + 0,2 Serum von Normal-Kaninchen.
Nach einer $^1/_2$ Stunde nach der Einspritzung im hängenden Tropfen und auf Strichpräp. intrap. Flüssigkeit wurde entdeckt		
1. sehr viele Vibrionen in Körnchenform 2. Abwesenheit beweglicher Bakterien 3. mittelstarke Leukocytose 4. starke Phagacytose	1. dasselbe 2. sehr wenig lebende Bakterien 3. schwache Leukocytose 5. mittelstarke Phagacytose	1. Abwesenheit der Körnchen 2. ausschließlich lebende Bakterien 3. Abwesenheit d. Leukocytose 4. Abwesenheit d. Phagacytose

Tabelle XIV.

Meerschweinchen von Körpergewicht.

Nach 2 Stunden		
1. sehr viele Vibrionen in Körnchen 2. Abwesenheit lebender Bakterien 3. sehr starke Leukocytose 4. sehr starke Phagacytose	1. dasselbe 2. wenig lebende Bakterien 3. mittelstarke Leukocytose 4. dasselbe	1. dasselbe 2. sehr viele lebende Bakterien 3. sehr schwache Leukocytose 4. schwache Phagacytose
Nach $4^1/_2$ Stunden		
1. sehr wenig Vibrionen in Körnchenform 2. Abwesenheit lebender Bakterien 3. sehr starke Leukocytose 4. sehr starke Phagacytose	1. sehr viele Vibrionen in Körnchenform 2. wenig lebende Bakterien 3. mittelstarke Leukocytose 4. starke Phagacytose	1. 2. 3. 4. } dasselbe wie nach 2 Stunden
lebt	Tod nach 24 Stunden	Tod in der Nacht
	Bei Obduktion gelang es außer flüssigen Blutes nichts zu konstatieren.	

Auf alle Fälle ergeben unsere Versuche, daß die Fähigkeit der Antihämolysinbildung abhängt von der Intaktheit des Hämolysins und unabhängig von den übrigen antigenen Funktionen ist.

Zusammenfassung.

1. Der Vibrio Naskin produziert analog dem Bacillus Tetani, Staphylokokkus, Streptokokkus usw. ein spezifisches Hämolysin, wie bereits Kraus gefunden hat.

2. Durch Filtration wird die hämolytische Kraft des Vibriolysin entweder erheblich geschwächt oder fast vernichtet, wie bereits Kraus konstatiert hat.

3. Am widerstandsfähigsten dem Hämolysin des Vibrio Naskin gegenüber zeigen sich die roten Blutkörperchen (in absteigender Reihenfolge) von Frosch, Taube und Mensch, wenig widerstandsfähig die roten Blutkörperchen von Schaf, Kaninchen, Ziege, Maus und Meerschweinchen.

4. Bei Virulenzsteigerung des Vibrio bleiben die hämolytischen Eigenschaften seiner Bouillonkulturen unverändert. Die größte Quantität Vibriolysin ist in den 12tägigen Bouillonkulturen enthalten.

5. Agarkulturen in 0,85prozentigem NaCl aufgeschwemmt und durch Toluol abgetötet, hämolysieren überhaupt nicht.

6. Dagegen erfolgt die Extraktion sehr erheblicher Hämolysinmengen aus den Agarkulturen in kurzer Zeit durch alkalische Lösungen.

7. Stärkere Lösungen kaustischer Alkalien zerstören rasch das Hämolysin. Es ist deshalb bei der Extraktion für die gegebenen Bedingungen, Zeit und Temperatur, ein Optimum auszuprobieren, bei dem die Extraktion am stärksten, die Zerstörung am geringsten ist. Die Möglichkeit, das Alkali in jedem Moment zu neutralisieren, erlaubt die Feststellung exakter Versuchsbedingungen.

8. Das Extraktionsoptimum des Vibriolysins aus der Agarkultur durch KHO und NaOH liegt etwa bei $^1/_{200}$ einer Normallösung bei $1/2$stündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur; bei kohlensaurem K und Na und NH_4 liegt das Optimum bei $^1/_{10}$ der Normallösung. Die schwächste Wirkung zeigt ceteris paribus das Ammoniumcarbonat.

9. Eintägige Agarkultur, mit 10 ccm Bouillon abgewaschen und durch Toluol abgetötet, hämolysiert weit stärker als die 12tägige Bouillonkultur.

10. Wirksam bei der Extraktion des Hämolysins aus der Agarkultur sind die anorganischen Bestandteile der Bouillon.

11. Die Agarkultur, mit 10 ccm 0,85prozentiger Kochsalzlösung abgewaschen, mit Sand zerrieben und sodann durch Toluol abgetötet, gibt ein sehr wirksames Hämolysin ab.

12. Das aus Agarkulturen extrahierte Hämolysin wird durch halbstündiges Erwärmen auf 56° zerstört. Es hat also eine Thermolabilität, wie sie dem von Kraus beschriebenen Hämolysin der Bouillonkulturen und überhaupt in der Regel Toxinen zukommt.

13. Bei Filtration von Agarkulturen, die mit Bouillon gewaschen und durch Toluol abgetötet sind, wird die hämolytische Kraft zerstört.

14. Injektionen von Kulturen, in denen das Hämolysin vorhanden ist, führen zur Bildung eines Antihämolysins. Dieselbe

findet nicht statt, wenn durch Erwärmung auf 70° das Hämolysin zerstört ist.

15. Die Antihämolysinbildung ist nur abhängig von dem Hämolysin und völlig unabhängig von den übrigen antigenen Eigenschaften der Kulturen.

16. Der Vibrio Naskin wirkt auf den Tierorganismus (Maus, Meerschweinchen und Kaninchen) nicht nur sepsiserzeugend, sondern vor allem auch toxisch.

17. Durch chemische oder mechanische Schädigung der Agarkulturen des Vibrio Naskin läßt sich ein Hämolysin (Endotoxin) aus denselben extrahieren, das in allen Stücken einem echten Toxin gleicht, nämlich dem von Kraus in Bouillon kulturen des Vibrio Naskin aufgefundenen Hämolysins.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Morgenroth meinen besten Dank für seine zahlreichen Ratschläge bei Ausführung vorliegender Arbeit auszudrücken.

Über die Produkte des Bacterium coli commune in Symbiose mit Milchsäurebacillen und unter einigen anderen Bedingungen.

Von

G. Belonowski aus Petersburg.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 2. September 1907.)

Trotz der zahlreichen Untersuchungen der Bakteriologen auf dem Gebiete der Darmflora kennen wir die Zusammensetzung derselben infolge der außerordentlichen Mannigfaltigkeit der einzelnen Arten, welche die Darmflora bilden, bei weitem noch nicht. Nichtsdestoweniger stimmen sämtliche Forscher darin überein, daß das B. coli commune zu den ständigen, zu den sogenannten „obligaten" Bewohnern des Darmes gehört. Als Beweis können wir die Arbeiten von Escherich[1]), der das B. coli commune entdeckt hat, sowie diejenigen von Buchner, Sucksdorf, Baginsky, Bienstock, Matzuschita u. a. anführen, welche das in Rede stehende Bacterium im Darmkanal des Menschen gefunden und beschrieben haben. Gronig[2]), Neubauer[3]), Ankersmit[4]) fanden das B. coli commune stets bei Wiederkäuern, Henick[5]) bei Schweinen, Lembke[6]) bei Hunden, Rahner[7]) bei Hühnern, Lewin[8]) bei manchen Tieren der Polar-

---

[1]) Fortschr. d. Medizin **3**, Nr. 16—17, 1885.

[2]) Inaug.-Diss., Bern 1902.

[3]) Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. **30**, 153, 1905.

[4]) Centralbl. f. Bakt. **39—40**, 359 u. a., 1905.

[5]) Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. **1903**, 476.

[6]) Arch. f. Hygiene **26**, 293, 1896.

[7]) Centralbl. f. Bakt. **30**, 239, 1901.

[8]) Zit. Malys Jahrb. **1904**, 513.

gegend. Moro[1]) und Tissier[2]), die sich von der Irrtümlichkeit der Ansicht Escherichs, nämlich daß das B. coli das erste Bacterium ist, welches im Darmkanal von Säuglingen auftritt, überzeugt und einen besonderen Mikroorganismus, nämlich den B. bifidus entdeckt haben, betrachten das B. coli gleichfalls als ständigen Darmparasiten, nehmen aber an, daß derselbe unmittelbar nach dem Übergang des Kindes von der Mutterbrust zur gewöhnlichen Nahrung auftritt. Matzuschita[3]), der 48 Kotproben bakteriologisch untersucht und aus denselben 44 verschiedene Bakterienarten isoliert hat, fand nur das B. coli als einen sämtlichen Kotproben gemeinsamen Parasiten, während die übrigen Bakterien in manchen Proben vorhanden waren, in anderen fehlten.

Senator[4]), Bouchard[5]), Czerny[6]) waren die ersten, welche im Darm die Bildung von toxischen Produkten festgestellt haben, die ihre Entstehung der Darmfäulnis verdanken. Durch die Untersuchungen von Jaffé[7]), Salkowski[8]) u. a. ist erwiesen, daß sämtliche Prozesse, welche mit Retention des Darminhalts einhergehen, wie beispielsweise Unterbindung von Darmschlingen, Ileus, Peritonitis usw., vor allem eine Zunahme der Intensität der Darmfäulnis herbeiführen, was aus der Zunahme der Indol-, Phenol-, Kresol- und Skatolmengen hervorgeht.

Diese Substanzen, welche im Darm permanent produziert werden, sind zweifellos Substanzen bakteriellen Ursprungs, d. h. sie entstehen unter dem Einflusse von Bakterien, welche eine Spaltung der Eiweißsubstanzen der Speisereste herbeiführen. Durch die Untersuchungen von Jaffé (l. c.), Nencki[9]), die von A. Smith[10]) bestätigt wurden, ist festgestellt, daß jene Produkte im Dünndarm, in dem bekanntlich Bakterien fast vollständig fehlen, nicht angetroffen werden. Andererseits haben sich Nuttal

[1]) Jahrb. f. Kinderheilk. **52**, 38, 1900.
[2]) „Recherches sur la flore intestinale de nourrissons," Paris 1900.
[3]) Arch. f. Hygiene **41**, 211, 1902.
[4]) Berl. klin. Wochenschr. **1864**, Nr. 24.
[5]) „Leçons sur les autointoxications," Paris 1887.
[6]) Jahrb. f. Kinderheilk. **64**, 15.
[7]) Virchows Archiv **70**, 78, 1877.
[8]) Ebenda **73**, 409, 1878.
[9]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **20**, 387, 1885.
[10]) Zit. nach Noorden, Pathol. d. Stoffwechsels **1**, 23.

und Thierfelder[1]) bei Gelegenheit ihrer bekannten experimentellen Untersuchungen über die Existenzbedingungen ohne Bakterien überzeugt, daß bei Meerschweinchen, welche unter sterilen Verhältnissen heranwuchsen, jene Substanzen mit Ausnahme der aromatischen Oxysäuren nicht auftraten.

Man muß unwillkürlich daran denken, daß auch das B. coli an den bakteriellen Prozessen, welche im Darmkanal vor sich gehen, sich beteiligt. Wir kennen mit Sicherheit eine große Reihe von Erkrankungen, in denen das B. coli unter dem Einflusse von verschiedenen Ursachen sich aus einem anscheinend harmlosen Saprophyten in ein sehr virulentes Bacterium verwandelt hat.[2])

Baginsky[3]) schreibt diesen Bakterien ebenso wie anderen Saprophyten die Fähigkeit zu, toxische Produkte, Ptomaine, Indol, Phenol usw. zu bilden. Snoeck-Henkelmann[4]) fand, daß das B. coli ständiger Begleiter und Ursache der vom Darm ausgehenden Autoinfektion ist. Mircoli[5]) hat einige Fälle beschrieben, in denen das B. coli Autointoxikation usw. verursacht hatte.

Es ist seit sehr langer Zeit bekannt, daß das B. coli Fäulnis der Eiweißsubstanzen herbeizuführen vermag, und die von Kitasato[6]) im Jahre 1889 bemerkte Indolbildung unter dem Einflusse des B. coli wird sogar als eine der charakteristischen Reaktionen desselben beim Wachsen auf Fleischpeptonbouillon betrachtet.

Phenol haben Loesner[7]), Chantemesse[8]), Lehmann und Neumann[9]), Blumenthal[10]) und viele andere Autoren

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **21**, 109; **22**, 62.

[2]) Manche Autoren, beispielsweise Bienstock, halten das Vorhandensein des B. coli im Darmkanal sogar für eine nützliche Erscheinung, da die Produkte seiner vitalen Funktion auf andere gefährlichere Bakterien baktericid wirken sollen.

[3]) Arch. f. Kinderheilk. **12**, 1, 1891.

[4]) Inaug.-Diss., Utrecht 1892.

[5]) Zit. nach Baumgartens Jahrb. **1896**, 293.

[6]) Zeitschr. f. Hygiene **7**, 515, 1889.

[7]) Arb. d. Kaiserl. Gesundheitsamts **1895**.

[8]) Compt. rend. de la Soc. de Biol. **1891**.

[9]) Annales de l'Inst. Pasteur **1900**, 750.

[10]) Zeitschr. f. klin. Med. **28**, Heft 3 u. 4, 1898.

nachgewiesen (nur Lewandowsky[1]) konnte dies nicht bestätigen). Lösener (l. c.), Wurtz[2]), Smidt und Aschoff[3]) haben die Bildung von NH_3 nachgewiesen.

Blumenthal (l. c.) fand Mercaptan als Stoffwechselprodukt, Chantemesse und Widal[4]) das Skatol.

Sommerfeld[5]) hat bei der Untersuchung der Stoffwechselprodukte des B. coli in mit Zucker versetzter Peptonbouillon, nicht flüchtige Fettsäuren, Ameisensäure, Bernsteinsäure, jodoformbildende Substanzen, CO_2, H, Milchsäure gefunden.

Rettger[6]) konnte bei der Untersuchung der Produkte, welche in Ei-Fleisch-Nährmedien gebildet waren, Skatol, Indol, aromatische Oxysäuren, Mercaptan, H_2S, Carbolsäure, Leucin, Tyrosin und Tryptophan nachweisen. Den Höhegrad der Zersetzung beobachtete er nach neunwöchigem Wachstum des B. coli.

Scruel[7]) fand Entwicklung von Essigsäure, Milchsäure, Spuren von Ameisensäure auch beim Wachstum des B. coli unter anaeroben Verhältnissen.

Pane[8]) beobachtete Entwicklung von Gasen unter dem Einflusse der Produkte der vitalen Funktion des B. coli in zuckerfreien Nährmedien. Lepierre[9]) hat eine quantitative und qualitative Analyse dieser Gase vorgenommen und (bei 2prozentiger Pepton-Gelatine) 22,33% Wasserstoff und 78,66% Stickstoff gefunden. Pfaundler[10]) glaubt, daß die spaltende Wirkung des B. coli auf Eiweiß derjenigen des Erepsins entspricht, d. h. daß das B. coli nur die sekundären Produkte der hydrolytischen Einwirkung auf Eiweiß zu spalten vermag. Leach[11]) fand bei der Untersuchung der Stoffwechselprodukte des B. coli auf Agar-Agar das Vorhandensein von Hexonbasen (Histidin, Arginin,

---

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. **1890**, 1186.
[2]) Arch. de Med. exper. 1893.
[3]) Zit. nach Kolle u. Wassermanns Handb. 2.
[4]) Compt. rend. de la Soc. de Biol. **1891**.
[5]) Arch. f. Kinderheilk. **22**, 226, 1897.
[6]) Zit. n. Malys Jahrb. **1904**, 1034.
[7]) Zit. n. Baumgartens Jahrb. **1891**, 289.
[8]) Zit. ebenda **1892**, 278.
[9]) Compt. rend. de la Soc. de Biol. **1898**.
[10]) Centralbl. f. Bakt. **31**, 113.
[11]) Zit. n. Malys Jahrb. **1904**, 1014.

Lysin). Schittenhelm und Schröter[1]) stellten fest, daß Guanin und Adenin unter dem Einflusse des B. coli sich in Xanthin und Hypoxanthin umwandeln. Savage[2]) fand in den Kulturen des B. coli eine besondere caseinbildende Substanz usw.

In der letzten Zeit ist die Frage der intestinalen Intoxikation infolge von Resorption von bakteriellen Produkten wiederum in den Vordergrund des Interesses getreten, und zwar dank Metschnikoff[3]), der annimmt, daß durch diese Intoxikation nicht nur akute und chronische Darmerkrankungen, sondern auch vorzeitige Senilität des Organismus herbeigeführt werden, welch letztere durch allmähliche chronische Abnutzung der Zellelemente bedingt wird, die unter dem Einflusse der permanenten Resorption von Eiweißfäulnisprodukten und bakteriellen Stoffwechselprodukten aus dem Darm vor sich geht.

Metschnikoff[4]) schildert die Resultate der Untersuchungen von Stern und Straßburger u. a. hinsichtlich der Erfolglosigkeit der Versuche, den Darmkanal durch die Anwendung von chemischen Mitteln (Naphthol, Kalomel usw.) zu desinfizieren, und gelangt zu dem Schlusse, daß man diese Frage in anderer Richtung zu lösen bestrebt sein muß: Man müsse, sagt Metschnikoff (l. c.), bestrebt sein, unsere Darmflora aus einer wilden in eine kultivierte, aus nützlichen oder wenigstens harmlosen Arten bestehende zu verwandeln, es werde, fährt er fort, über zahlreiche Versuche berichtet, die verschiedenen Gärungsprozesse mittels Reinkulturen zu regulieren, um die Wein-, Alkohol- und Käsefabrikation zu vervollkommnen. Es sei nun an der Zeit, ähnliche Methoden anzuwenden, um die Gärungsprozesse, welche im Darmkanal des Menschen vor sich gehen, zu vervollkommnen. Es muß hervorgehoben werden, daß diese Gedanken auch von anderen Forschern zum Ausdruck gebracht worden sind. So gelangt beispielsweise Baginsky[5]) (im Jahre 1888) zu dem Schlusse, daß die biologische Desinfektion der chemischen überlegen sei. Er stützt sich dabei auf seine Experimente, die darin bestanden, daß er in zuckerhaltigen Nährmedien gleichzeitig den von ihm

[1]) Centralbl. f. Bakt. **35**, 545, 1901.
[2]) Zit. n. Malys Jahrb. **1904**, 962.
[3]) „Etudes sur la nature humaine," Paris III ed. 1905.
[4]) Bull. de l'Inst. Pasteur **1**, 217, 265, 1903.
[5]) Deutsch. med. Wochenschr. **1888**, 391, 414.

im Darmkanal von Kindern gefundenen gelatineverflüssigenden Bacillus albus und den B. lactis aerogenes säte und das Verschwinden des ersteren beobachtete. Bereits einige Zeit zuvor hat Herter[1]) die Wahrnehmung gemacht, daß bei Einführung einer großen Quantität von Milchsäurebakterien in den Darmkanal eines Hundes die Darmfäulnis eine bedeutende Herabsetzung erfährt (die Einführung von B. coli vermehrte dieselbe). Brudsinsky[2]) hat unter Leitung Escherichs eine Reihe von Beobachtungen in dieser Richtung angestellt, indem er darmkranken Kindern junge Kulturen von B. lactis aerogenes verabreichte, um die Proteusbacillen aus dem Darmkanal zu verdrängen. Seine Experimente hatten den gewünschten Erfolg. Hierher gehören die späteren unter Leitung Metschnikoffs ausgeführten Beobachtungen von Cohendy[3]) hinsichtlich des Einflusses der innerlichen Verabreichung von Milchkulturen der Yogourthbakterien, sowie die Untersuchungen von Tissier[4]) hinsichtlich des Einflusses der innerlichen Verabreichung von Kulturen des B. paralacticus und des von ihm entdeckten B. bifidus bei Gastroenteritiden.

Auf Grund zahlreicher Beobachtungen über die Wirkung der Milchgärung ist Metschnikoff (l. c.) beharrlich bestrebt, dem Genuß von saurer Milch als eines Mittels Eingang zu verschaffen, welches einerseits die Darmfäulnis herabsetzt und andererseits dem Darmkanal neue Bakterien zuführt, die unbedingt als dem Organismus nützliche Bakterien betrachtet werden können. Für besonders geeignet hält er die oben erwähnten Bakterien, welche zur Herstellung einer besonderen Art von saurer Milch dienen, die in Rumänien und Bulgarien verbreitet ist, nämlich das Yougourt-Bakterium.[5])

I.

In Anbetracht sämtlicher im vorstehenden vorgebrachten Momente war es von Interesse, den Einfluß des Vorhandenseins

[1]) Brit. med. Journ. **1897**, 1848.

[2]) Jahrb. f. Kinderheilk. **42**, 469, 1900.

[3]) Compt. rend. de la Soc. de Biol. **1906**, No. 7, 13.

[4]) Ebenda No. 7.

[5]) Beschreibung der Eigenschaften dieser Bakterien vgl. Cohendy (Compt. rend. de la Soc. de Biol. **1906**, No. 12) und Bertrand (Annales de l'Inst. Pasteur **1906**, No. 12).

von Milchsäurebakterien auf den einen der Erreger der im Darmkanal vor sich gehenden Gärungsprozesse zu erforschen, und ich habe zum Zwecke meiner Untersuchungen das B. coli commune als Repräsentanten dieser Erreger gewählt. Als Milchsäurebakterien verwendete ich erstens den Bacillus lactis acidi und den oben erwähnten Bacillus der bulgarischen sauren Milch.[1]) Desgleichen untersuchte ich den Einfluß auch einiger anderer Momente: des Vorhandenseins eines Überschusses von kohlensaurem Kalk (zur Bindung der sich beim Wachstum der Bakterien entwickelnden Säuren), sowie des Alkaliüberschusses auf den Stoffwechsel des B. coli. Ich untersuchte dabei die Mengen des sich entwickelnden Schwefelwasserstoffs, Mercaptans, Indols, Phenols, die Quantität des zerstörten organischen Stickstoffes, die Quantität der flüchtigen und nicht flüchtigen Säuren, speziell der Bernstein- und Milchsäure. Außerdem wurden vor der chemischen Untersuchung auf Agar-Agar Plattenkulturen angelegt, um die Anzahl der Bakterien zu bestimmen.

Herstellung des Nährmediums und Versuchsanordnung.

Als Substrat für das Wachstum der bezeichneten Bakterien wurde eine Bouillon verwendet, welche folgendermaßen hergestellt wurde: Zu 800 ccm Leitungswasser wurden 200 ccm Kalbfleischbouillon hinzugesetzt, welche durch Kochen von Fleischbrei mit der doppelten Quantität Wasser und Filtrieren gewonnen wurde; zu dem auf diese Weise gewonnenen Liter Flüssigkeit wurden zugesetzt: 20,0 g Pepton (Witte), 5,0 g Kochsalz, 0,25 g Monokaliumphosphat, 0,028 g Natriumcarbonat[2]) und schließlich 20,0 g Milchzucker. Die Nährlösung reagierte schwach alkalisch. Bei speziellen Experimenten hatte die Bouillon eine andere Zusammensetzung, von der im nachstehenden die Rede sein wird. Das auf diese Weise hergestellte Nährmedium wurde nach vorangehender Sterilisierung im Kolben mit einer zweitägigen Kultur der oben bezeichneten Bakterien (Bouillon-

[1]) Den ersteren habe ich aus geronnener Milch isoliert, den letzteren aus dem Pasteurschen Institut zu Paris erhalten.

[2]) Zu 1800 ccm der Bouillon wurden 0,25 g Na_2CO_3 hinzugesetzt; daraus resultiert für 1 l Nährflüssigkeit 0,028 Na_2CO_3, die Lösung des Witte-Peptons reagierte an sich alkalisch.

kultur für B. coli, Milchkultur für Milchsäurebacillen) beschickt und für die Dauer von 8 Tagen in den auf 39° eingestellten Brutschrank gebracht. Bei der Verarbeitung des Kolbeninhaltes schloß ich mich im allgemeinen dem Verfahren an, welches F. Blumenthal[1]) in seiner aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts hervorgegangenen Arbeit über die Stoffwechselprodukte des Bacterium coli angewendet hat. Die Methodik der Untersuchung ist bei der Beschreibung der Gewinnung der einzelnen analysierten Substanzen besonders angegeben.

Schwefelwasserstoff und Mercaptan.

Die quantitative Bestimmung des Schwefelwasserstoffs und Mercaptans geschah folgendermaßen: Aus den Kolben, welche das zu untersuchende Material enthielten, wurden die Gase in eine 3 prozentige Quecksilbercyanidlösung abgeleitet, wobei behufs vollständiger Eliminierung der bezeichneten Verbindungen die Kolben nach Herausnahme derselben aus dem Brutschrank 2 Stunden lang unter Durchleiten eines Luftstromes auf dem Wasserbade erwärmt wurden. Der entstandene schwarze Quecksilbersulfid- und Quecksilbermercaptidniederschlag wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt, über H_2SO_4 getrocknet und gewogen. Zur quantitativen Bestimmung des eigentlichen Mercaptans wurde dasselbe samt dem Filter in 3 prozentige Salzsäure gebracht, die Flüssigkeit erhitzt und die Dämpfe in 3 prozentige Bleizuckerlösung geleitet, in der sich ein gelblicher Niederschlag von Bleimercaptid bildete, der gleichfalls auf einem Filter gesammelt, getrocknet und gewogen wurde. Dieser Methode bediente ich mich zur Bestimmung der erwähnten Substanzen bei den Experimenten, von denen im zweiten Teile meiner Arbeit die Rede ist. Hier aber, wie auch beim Kontrollexperiment, wo die Zuckerbouillon nur mit B. coli beschickt war, desgleichen bei den Experimenten, wo sich das B. coli mit B. lactis acidi und mit B. bulgaricus befand, konnte von einer Bestimmung der erwähnten Substanzen nicht die Rede sein, da die Mengen derselben gleich Null waren. Von den Quantitäten dieser Sub-

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. **28**, Heft 3 u. 4, 1898.

stanzen bei den übrigen Experimenten wird im nachstehenden die Rede sein.

Indol und Phenol.

Die Bestimmung dieser Körper geschah nach den Angaben von Prof. Salkowski, die in seinem „Praktikum der physiologischen und pathologischen Chemie" enthalten sind. Der Inhalt der Kolben wurde destilliert, und zwar so lange, bis derselbe auf eine gewisse, für alle Experimente gleiche Quantität (700 ccm) gebracht war; zum Rest wurde 1 l Wasser zugesetzt und das Ganze wiederum destilliert (die Gesamtmenge des Destillats betrug somit 1700 ccm). Das Destillat wurde in drei Portionen eingeteilt, welche nacheinander mit Äther ausgeschüttelt wurden. Hierauf wurde das Destillat noch einer zweiten Extraktion unterzogen. In dem auf diese Weise gewonnenen Ätherextrakt sind Indol und Phenol usw. enthalten. Zur Abscheidung des Phenols wurde der gewonnene Ätherauszug mit einer gleichen Quantität Wasser und 50 ccm Natronlauge ausgeschüttelt. Das Phenol und Kresol ging dabei in die alkalische wässerige Lösung über, während das Indol im Äther verblieb. Zur Gewinnung des letzteren wurde der Äther zum größten Teil verdampft, der Rest in ein gewogenes Wägegläschen gegossen und nach Abdampfung des Äthers der gelbliche krystallinische Rückstand von Indol gewogen. Die Erkennung des Indols geschah durch den charakteristischen Jasmingeruch (Blumenthal), sowie auch durch die sogenannte Cholerarot- und die Legalreaktion.

Zur Bestimmung des Phenols wurde die obenerwähnte alkalische Lösung desselben bis zur deutlichen sauren Reaktion mit Salzsäure angesäuert, worauf die saure Reaktion mittels Na_2CO_3 bis zur schwach-sauren neutralisiert wurde, welch letztere beim Kochen in einer einzelnen Probe in alkalische übergegangen war. Aus dieser Lösung wurde das Phenol durch neue Extraktion mittels Äthers und, nach Abdampfung des letzteren, durch Zusatz von Bromwasser im Überschuß in Form von Tribromphenol gewonnen. Letzteres wurde getrocknet und gewogen. Das Phenol konnte ich nur im Kontrollexperiment nachweisen, und zwar in einer so geringen Quantität, welche man nur als „Spuren" bezeichnen konnte. Das Indol habe ich in folgenden Quantitäten erhalten:

Tabelle I.

Indolmenge.

Versuche	I. Reihe von Versuchen	II. Reihe von Versuchen
Kontrollversuche (B. coli allein)	0,0303	0,0402
B. coli nebst B. lactis acidi	0,0193	0,0212
B. coli nebst B. bulgaricus	nur unbestimmbare Spuren	0,0049

Daraus geht hervor, daß das Vorhandensein von Milchsäurebakterien zu einer bedeutend geringeren Bildung von Indol führte, namentlich in dem Falle, wo sich der Bacillus bulgaricus befand.

Nichtzerstörtes und zerstörtes Eiweiß resp. Pepton.

Die quantitative Bestimmung des durch die Bakterien nicht zerstörten Eiweißes bot besonderes Interesse, weil dadurch diejenige Rolle, welche die Bakterien im Darmkanal spielen können, eine wesentliche Charakterisierung erfahren muß. Nach den Untersuchungen von Macfadyen, Nencki und Sieber[1]) wird ein Siebentel des gesamten in den Darmkanal eingeführten Eiweißes im Dickdarm durch Fäulnis zerstört. Tappeiner[2]) berechnet diesen Verlust (für das Pferd) auf ein Zehntel der Gesamtquantität. Schittenhelm und Tollens[3]) haben Straßburgers[4]) Befund bestätigt, daß eine große Menge des Stickstoffs des Kotes (bis 41,6%) aus Bakterien gebildet ist.

Die Methodik der Stickstoffbestimmung war in meinen Experimenten die folgende: Der durch die vorangegangene Destillation gewonnene Rest wurde zur Extraktion der flüchtigen und festen Säuren (siehe unten) mehrmals mit Alkohol absolutus

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **28**, 311, 1891.
[2]) Zeitschr. f. Biol. **20**, 52, 1884.
[3]) Centralbl. f. inn. Med. **1904**, 761.
[4]) Zeitschr. f. klin. Med. **46**, 413, 1902.

bearbeitet, wobei die in Lösung befindlichen Eiweißsubstanzen ausfielen. Nach Entfernung des Alkohols wurden sie in Wasser gelöst, worauf der Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt wurde. Diese Quantität wurde von der Gesamtmenge, die in der Bouillon enthalten war, in Abzug gebracht und auf diese Weise die Menge des zerstörten Stickstoffs ermittelt.

Tabelle II.

Stickstoff des unzersetzten und zersetzten Eiweißes.

Proben	Unzersetztes				Zersetztes			
	I. Reihe von Versuchen		II. Reihe von Versuchen		I. Reihe von Versuchen		II. Reihe von Versuchen	
	Menge	%	Menge	%	Menge	%	Menge	%
Kontrollversuch (B. coli allein)	1,743	49,3	1,915	54,3	1,793	50,7	1,621	45,7
B. coli nebst B. lactis acidi	1,953	55,1	2,184	61,8	1,583	44,9	1,352	38,2
B. coli nebst B. bulgaricus	2,268	64,2	2,464	69,7	1,268	35,8	1,072	39,3

Wir sehen also, daß das Vorhandensein von Milchsäurebakterien eine Verringerung der Stickstoffzerstörung zur Folge hat. Besonders deutlich tritt diese Differenz beim B. bulgaricus hervor, wo die Quantität des zerstörten Stickstoffes fast $1^1/_2$ mal so gering war wie im Kontrollexperiment.

Flüchtige Säuren.

Die flüchtigen Säuren wurden folgendermaßen bestimmt: Die oben erwähnten Alkoholauszüge wurden auf dem Wasserbade bis zur Sirupkonsistenz verdampft, der Sirup in 200 ccm Wasser gelöst, mit 20 ccm verdünnter (1 : 5) H_2SO_4 versetzt und so lange destilliert, bis 150 ccm Destillat gewonnen waren. Zum Rest wurden wiederum 100 ccm H_2O zugesetzt und hierauf weitere 100 ccm abdestilliert. Letztere Prozedur wurde zweimal wiederholt, so daß 350 ccm Destillat gewonnen wurden, von dem 50 ccm mittels halbnormaler Lösung von Ätznatron unter Zusatz von Rosolsäure titriert wurden.

Tabelle III.
Flüchtige Säuren.

Versuche	Zur Neutralisation gebrauchte Halbnormallauge	
	I. Reihe von Versuchen	II. Reihe von Versuchen
Kontrollversuch B. coli allein	8,25 ccm	3,5 ccm
B. coli nebst B. lactis acidi	9,00 „	2,1 „
B. coli nebst B. bulgaricus	10,5 „	4,9 „

Wir sehen also, daß **in bezug auf die flüchtigen Säuren die Differenz zwischen den nur B. coli und gleichzeitig Milchsäurebacillen enthaltenden Kulturen nicht groß ist.**

Nicht flüchtige Säuren.

Die beim Abdestillieren erhaltenen sauren wässerigen Flüssigkeiten wurden viermal mit Äther ausgeschüttelt. Der beim Abdestillieren des Ätherauszuges gebliebene Rückstand wurde mit Wasser ausgezogen, filtriert, eingedampft, mit Wasser aufgenommen und unter Alkoholzusatz auf 100 ccm gebracht. Davon wurden 10 ccm zur Bestimmung der Quantität der Säuren mit Halbnormallauge titriert. Die Quantität dieser Säuren nimmt, wie aus Tabelle IV zu ersehen ist, bei Vorhandensein von Milchsäurebakterien bedeutend zu.

Tabelle IV.
Nicht flüchtige Säuren.

Versuche	Zur Neutralisation gebrauchte Halbnormallauge	
	I. Reihe von Versuchen	II. Reihe von Versuchen
Kontrollversuch B. coli allein	10,0	5,5
B. coli nebst B. lactis acidi	25,0	18,0
B. coli nebst B. bulgaricus	36,0	47,0

Um den Charakter derselben zu bestimmen, unterzog ich den Rest (90 ccm) einer weiteren Bearbeitung, und zwar einer Bestimmung der Bernstein- und Milchsäure.

Die Methodik bestand in folgendem: Die von der vorangehenden Bestimmung zurückgebliebenen 90 ccm der Lösung der nicht flüchtigen Säuren wurden auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand in Wasser aufgelöst und mit einer geringen Quantität Bleioxyd zur Bildung von milchsaurem und bernsteinsaurem Blei erwärmt. Hierauf wurde die Flüssigkeit wiederum vollständig eingedampft und der Rückstand mit Alkohol bearbeitet. Das milchsaure Blei ging dabei in Lösung über, während das bernsteinsaure Blei ungelöst blieb und mittels Eisessig gelöst wurde. Aus den Lösungen wurde das Blei mittels Durchleitung eines Schwefelwasserstoffstromes entfernt und hierauf die Milchsäure durch Titrierung mit halbnormaler Alkalilösung, die Bernsteinsäure durch Verdampfung, wiederholte Behandlung des Rückstandes mit heißem Wasser usw. ermittelt. Diese Methode ist, worauf bereits Blumenthal[1]) hingewiesen hat, mit manchen Schwierigkeiten verknüpft; auch sind die Zahlen, welche mit Hilfe dieser Methode ermittelt werden, wahrscheinlich niedriger als die wirklichen, was sich namentlich bei der Bestimmung der Bernsteinsäure bemerkbar machte, und aus diesem Grunde konnte ich das Vorhandensein dieser Säure nur in sehr geringer Menge bzw. „Spuren" nachweisen. Die Milchsäurequantitäten sind aus folgender Tabelle zu ersehen.

Tabelle V.

Milchsäure und Bernsteinsäure.

Proben	Milchsäure				Bernsteinsäure	
	I. Reihe von Versuchen		II. Reihe von Versuchen		I. Reihe von Versuchen	II. Reihe von Versuchen
	Menge der $^1/_2$ Normallauge	Absolute Menge (Gewicht)	Menge der $^1/_2$ Normallauge	Absolute Menge (Gewicht)		
Kontrollversuch B. colli allein	Spuren	—	1,5	0,0675	Spuren	Sehr geringe Quantität
B. coli nebst B. lactis acidi	8,0	0,36	6,0	0,3015	0	0
B. coli nebst B. bulgaricus	10,0	0,45	31,3	1,3085	0	0

[1]) Virchows Archiv **146**, 67, 1896.

Das Vorhandensein von Milchsäurebakterien führt somit eine bedeutende Zunahme der Milchsäuremengen herbei.

Deutliche Spuren von Bernsteinsäure wurden nur in der Kontrollprobe ermittelt.[1])

Wenn man die erzielten Resultate zusammenstellt, kann man zu folgenden Schlüssen gelangen: Das Vorhandensein von Milchsäurebakterien übt auf die Stoffwechselprodukte des B. coli commune in der Weise einen Einfluß aus, daß eine bedeutende Herabsetzung der Produktion der aromatischen Substanzen, eine Herabsetzung der Zerstörung des Stickstoffes des Nährsubstrats und eine Steigerung der Produktion der nicht flüchtigen Säuren stattfindet. Letzteres ist auf die bedeutende Milchsäureproduktion (bis 1,3 g pro Liter) zu beziehen, und zwar, wie man annehmen muß, aus dem Zucker des Nährmediums.

In dem Vorhandensein von Milchsäure in bedeutender Quantität liegt auch wahrscheinlich die Ursache der weniger intensiven Eiweißspaltung.

Der hemmende Einfluß der Milchsäure auf die Fäulnisprozesse ist schon von verschiedenen Autoren angegeben. So haben Rovighi[2]), Eiger[3]), Schmitz[4]), Grundzach[5]), Singer[6]), Kopetzky[7]) auf die Fähigkeit derselben hingewiesen, sowohl die Anzahl der Mikroorganismen in der Darmflora, wie auch die Quantität des Indicans und der Ätherschwefelsäuren im Harn herabzusetzen. Aus diesem Grunde hat Hayem[8]) die Milchsäure in weitem Maße in seine Praxis bei Darmerkrankungen eingeführt. · Tissier und Martelly[9]) haben die Beobachtung gemacht, daß der Zusatz von Milchsäurebakterien zum faulenden Fleisch die Fäulnisprozesse bedeutend verringert; setzt man

---

[1]) Als diagnostische Reaktion auf Milchsäure diente die Uffelmannsche Probe auf Bernsteinsäure, das Aussehen (krystallinische Beschaffenheit) und die sogenannte Hustenreaktion; außerdem das charakteristische Verhalten der Säure zu neutralem Bleiacetat.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 207.

[3]) Russische Diss., St. Petersburg 1893.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**, 401.

[5]) Zeitschr. f. klin. Med. **1893**, 70.

[6]) Therap. Monatsh. 1901, Nr. 9.

[7]) Russische Diss., St. Petersburg 1900.

[8]) Zit. n. Metschnikoff.

[9]) Annales de l'Inst. Pasteur **1902**, 865

aber Soda hinzu, welche die Milchsäure neutralisiert, so geht die Fäulnis wiederum sehr intensiv vor sich. Daraus ergibt sich gleichfalls die Bedeutung der Milchsäure. Außerdem übt die Milchsäure, wie Bokai[1]) nachgewiesen hat, auf die Peristaltik einen steigernden Einfluß aus.

II.

Um die Verhältnisse, welche eine mehr oder minder bedeutende Spaltung der Eiweißsubstanzen unter dem Einflusse des B. coli bewirken, näher zu beleuchten, habe ich noch folgende Experimente aufgeführt:

Experiment I (Kontrollexperiment). Als Substrat für das Wachstum des B. coli wurde Bouillon der oben erwähnten Zusammensetzung, jedoch ohne Zucker verwendet.

Experiment II. Zur zuckerhaltigen (20 g Milchzucker) Bouillon wurde $CaCO_3$ im Überschuß (20 g) zugesetzt.

Experiment III. $CaCO_3$ wurde zur zuckerfreien Bouillon zugesetzt.

Experiment IV. Es wurde zuckerhaltige Bouillon, jedoch von größerer Alkalescenz, verwendet, nämlich noch 2,0 g Na_2CO_3 (pro Liter) hinzugesetzt.

Experiment V. Bei derselben Alkalescenz wie der Nährlösung wurden 2,0 g Na_2CO_3 hinzugefügt.

Die auf diese Weise hergestellten Nährmedien wurden mit B. coli geimpft und die Proben befanden sich unter den früheren Versuchsbedingungen. Die Resultate dieser Experimente sind in folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle VI.

Versuche	Schwefelwasserstoff	Mercaptan	Indol	Phenol
I. Nährlösung ohne Zucker	0,0498	Spuren	0,2204	Spuren
II. 2proz. Zuckernährlösung nebst Überschuß von $CaCO_3$	0,024	"	0,0427	"
III. Nährlösung ohne Zucker nebst Überschuß von $CaCO_3$	0,1022	"	0,649	0,0344
IV. alkalische Zuckernährlösung	0	0	0,0398	Spuren
V. alkalische Nährlösung ohne Zucker	0,0023	Spuren	0,0703	"

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **24**, 153.

Tabelle VII.

Versuche	Unzersetzter Stickstoff		Zersetzter Stickstoff	
	Menge	%	Menge	%
I	1,778	50,2	1,758	49,8
II	1,813	51,8	1,703	48,2
III	0,833	20,5	2,693	79,5
IV	1,825	51,6	1,711	48,4
V	1,666	47,1	1,87	52,9

Tabelle VIII.

Versuche	Flüchtige Säuren	Nicht flüchtige Säuren	Milchsäure	Bernsteinsäure
I	6,0	5,0	0	Spuren
II	48,3	34,5	0	„
III	11,9	1,0	0	0,0422
IV	20,0	9,0	Spuren	0
V	15,7	3,0	0	Spuren

Die Zahlen bedeuten die ccm der zur Neutralisation gebrauchten Halbnormallauge.

Aus der Betrachtung dieser Tabellen ergibt sich folgendes: Das Mercaptan habe ich überall nur in „Spuren“ nachweisen können. Dagegen kommt die Gesamtquantität von Schwefelwasserstoff und Mercaptan (Gewicht des Quecksilberniederschlages), welche in den früheren Experimenten, wie wir gesehen haben, gleich Null war, hier in folgenden Zahlen zum Ausdruck: 0,1022 im III. Experiment; 0,0498 im I., 0,024 im II. und 0,0023 im V. Experiment. Im IV. Experiment fehlten die beiden Substanzen vollständig.

Die Indol- und Phenolmenge ist bedeutend größer als diejenige, welche wir in den vorstehenden Experimenten gesehen haben. Sie erreichen ihr Maximum im III. Experiment, und in absteigender Richtung in bezug auf die Indol- bzw. Phenolmenge schließen sich die Experimente I, V, II und IV an. Die Menge des Phenols (Tribromphenol) wurde in diesen letzteren vier Experimenten als Spuren ermittelt, während sie im III. Experiment 0,0344 betrug. Im III. Experiment fällt besonders die

außerordentlich bedeutende Zerstörung des organischen Stickstoffes auf, welcher bis 79,5% des Gesamtstickstoffes verfielen. In den übrigen Experimenten bewegen sich die bezüglichen Quantitäten in folgender Reihenfolge: V. Experiment 52,9%, I. Experiment 49,8%, IV. Experiment 48,4% und VI. Experiment 48,2%.

Was die Quantität der flüchtigen Säuren betrifft, so macht sich ein starkes Auftreten derselben im II. Experiment bemerkbar, während in den übrigen Experimenten die Differenz keine scharf ausgesprochene ist. Ameisensäure wurde nicht ermittelt. Bezüglich der Quantität der nicht flüchtigen Säuren fiel die geringfügige Entwicklung derselben in den Experimenten, in denen zuckerfreies Nährsubstrat verwendet wurde, und im Gegenteil bedeutende Anhäufung derselben im II. Experiment auf. Die Untersuchung der nicht flüchtigen Säuren auf Milchsäure und Bernsteinsäure ergab das Vorhandensein von Milchsäure nur im IV. Experiment, während sie in den übrigen Experimenten überhaupt nicht ermittelt werden konnte. Die Bernsteinsäure fehlte im II. und IV. Experiment.

Besprechung der gewonnenen Resultate.

Indem ich nun zur Besprechung der gewonnenen Resultate übergehe, glaube ich vor allem auf den stark ausgesprochenen Einfluß des Vorhandenseins von Zucker im Nährsubstrat auf die Zersetzung des Peptons eingehen zu müssen. Wenn wir die vollvollständig analogen Experimente, nämlich die Kontrollexperimente aus der ersten Hälfte meiner Arbeit und das Experiment Nr. I aus der zweiten Hälfte miteinander vergleichen, so sehen wir, daß im ersten Falle Mercaptan, Schwefelwasserstoff, Phenol vollständig fehlen, die Indolmenge fast siebenmal geringer und die Quantität des zerstörten Eiweißes gleichfalls bedeutend geringer ist. Die Ursache dieser Erscheinung muß man augenscheinlich in der Überproduktion der flüchtigen sowohl wie auch nicht flüchtigen Säuren, hauptsächlich natürlich in der Milchsäure (Fehlen derselben im Experiment, in dem ein zuckerfreies Nährsubstrat verwendet wurde), erblicken.

Der Einfluß der verschiedenen Zuckerarten auf die Eiweißspaltung sowohl innerhalb des Organismus wie auch in vitro bildete den Gegenstand ziemlich zahlreicher Untersuchungen.

So hat Hirschler[1]) einen derartigen Einfluß des Rohrzuckers nachgewiesen. Solucha[2]) hat beobachtet, daß Milchzuckerlösungen im Darm die Eiweißfäulnis herabsetzen und eine gewisse Desinfektion der Darmflora bewirken, was Kopetzky (l. c.) und Wereschtschagin[3]) auch gefunden haben (letzterer in bezug auf Rohrzucker). Fischer[4]) hat festgestellt, daß verschiedene pathologische Flüssigkeiten, die im Organismus vorkommen, im Beisein von Zucker längere Zeit nicht in Fäulnis übergehen. Seelig[5]), der mit Reinkulturen von B. coli gearbeitet hatte, fand gleichfalls eine Verringerung des Eiweißzerfalls in denjenigen Experimenten, in denen das Nährsubstrat Milchzucker enthielt. Hellström[6]) hat beobachtet, daß Colibacillen zugrunde gehen, wenn das Nährmedium 1% Zucker enthält. Schließlich hat Simnitzky[7]) durch umfangreiche Untersuchungen nachgewiesen, daß verschiedene Zuckerarten die uns interessierende Fähigkeit besitzen (Simnitzky hat mit Mischinfektionskulturen gearbeitet).

Das Vorhandensein der angegebenen Menge von kohlensaurem Kalk (Experiment III) übt auf die Entwicklung der Fäulnisprodukte einen außerordentlich begünstigenden Einfluß aus. Die von mir beobachtete größte Quantität derselben, sowie auch die größte Zerstörung des organischen Stickstoffes entfällt gerade auf dieses Experiment. Das Vorhandensein von Milchzucker im analogen Experiment (Experiment II) erscheint wiederum als hemmendes Moment, wenn auch in bedeutend geringerem Grade als bei Fehlen von $CaCO_3$. Der Einfluß der Alkalien (Experiment V) steigert in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Blumenthal, Tissier, Martelly u. a. die Eiweißspaltung (bis 52% des zerstörten organischen Stickstoffes), wenn auch weniger auffallend als im oben mitgeteilten Experiment III. Das Vorhandensein von Zucker im analogen Experiment (Experi-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**, 306, 1886.
[2]) Russische Diss., St. Petersburg 1896.
[3]) Russische Diss., St. Petersburg 1897.
[4]) Zeitschr. f. Chirurgie **22**, 225.
[5]) Virchows Archiv **146**, 53, 1896.
[6]) Refer. Centralbl. f. Bakt. **1897**.
[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 99, 1903.

ment IV) bewirkt wiederum eine deutlich wahrnehmbare Herabsetzung der Intensität der Eiweißspaltung.

Wie oben bereits gesagt wurde, wurden vor Beginn der chemischen Analyse Plattenkulturen auf Petri-Schalen[1]) angelegt, um den Zusammenhang zwischen der Intensität der Zersetzung und der Anzahl der beim Experiment tätigen Bakterien zu erforschen.

Tabelle IX.

Versuche	Bakterienzahl in 1 ccm Nährlösung
2% Zuckernährlösung (B. coli allein)	0
Zuckernährlösung (B. coli nebst B. lactis acidi)	0
Zuckernährlösung (B. coli nebst B. bulgaricus)	0
Zuckernährlösung mit Überschuß $CaCO_3$ (B. coli). Versuch II	960000000
2% alkalischer Zuckernährlösung (B. coli). Versuch IV	0
Nährlösung ohne Zucker (B. coli). Versuch I	1650000000
Nährlösung ohne Zucker mit Überschuß $CaCO_3$ (B. coli). Versuch III. .	2220000000
2% alkalischer Nährlösung ohne Zucker (B. coli). Versuch V	4800000000

Es hat sich somit ergeben, daß in denjenigen Experimenten, in denen Milchzucker zur Verwendung kam, sämtliche Bakterien gegen Ende des Experiments, d. h. nach achttägigem Aufenthalt im Brutschrank bereits zugrunde gegangen sind. Eine Ausnahme bildet das Experiment, in dem neben dem Zucker auch kohlensaurer Kalk Verwendung fand. Die größte Kolonienzahl, nämlich 4800 Millionen pro Kubikzentimeter des Nährmediums, habe ich im Experiment V erhalten, d. h. im Beisein von Alkaliüber-

---

[1]) Es wurde einfacher Agar-Agar genommen, damit nur B. coli Kolonien bildet und die Milchsäurebakterien nicht durch ihr Wachstum das Resultat verdunkeln.

schuß, dann im Experiment III ($CaCO_3$ ohne Zucker) 2220 Millionen, im Experiment I 1650 Millionen (Bouillon ohne Zucker) und schließlich im Experiment II (gezuckerte Nährlösung mit $CaCO_3$) 960 Millionen. Im allgemeinen kann man sagen, daß die Anzahl der Kolonien, wenn auch nicht stets, so doch zumeist der Quantität der nicht flüchtigen Säuren resp. der Milchsäurequantität umgekehrt proportional ist.

Wenn wir die gezählten Kolonienmengen mit der Intensität der Bildung von Mercaptan, Indol, Phenol und Schwefelwasserstoff, sowie mit der Quantität des zerstörten Stickstoffes vergleichen, so sehen wir, daß diese Zahlen voneinander nicht abhängen. So war beispielsweise im Experiment V, wo ich die größte Anzahl Kolonien ermittelt hatte, der Zerstörungsgrad des Peptons nicht maximal. Es geht daraus somit hervor, daß, von chemischen Ursachen abgesehen, unter dem Einflusse eingeführter Ingredienzien auch biologische Ursachen entstehen, welche zur Folge haben, daß die Bakterien trotz ihres quantitativen Übergewichts weniger befähigt sind, die besprochenen Spaltungsprodukte zu produzieren.

Zusammenfassung.

1. Das Vorhandensein von Milchsäurebakterien — des Bacillus lactis acidi und des Bacillus bulgaricus — führt in zuckerhaltigen Bouillon-Peptonkulturen des B. coli eine Herabsetzung der Eiweißspaltung herbei, was hauptsächlich zum Ausdruck kommt: a) in der geringeren Indol- und Phenolbildung, b) in der bedeutend geringeren Zerstörung des organischen Stickstoffes. Diese Erscheinungen sind im Beisein des Bacillus bulgaricus besonders scharf ausgesprochen.

2. Durch das Vorhandensein der bezeichneten beiden Bakterienarten wird die bedeutende Überproduktion von Milchsäure (bis 1,3 g pro Liter Bouillon) bedingt, aus der die nicht flüchtigen Säuren hauptsächlich bestehen.

3. Die Bernsteinsäuremenge war in den Proben mit Milchsäurebakterien gleich Null.

4. Das Vorhandensein von $CaCO_3$-Überschuß steigert den Eiweißzerfall, ohne daß es auch bei Gegenwart von Zucker zur Milchsäurebildung kommt.

5. Größere Alkalinität ($2^0/_{00}$ Na_2CO_3) übt einen gewissen Einfluß auf den Grad der Zerstörung des organischen Stickstoffes aus.

6. Das Vorhandensein von Milchzucker (in 2prozentiger Konzentration) übt einen sehr stark ausgesprochenen Einfluß auf die Stoffwechselprodukte unter sämtlichen erörterten Bedingungen aus; im Beisein von Alkali oder von kohlensaurem Kalk tritt vollständiges Verschwinden oder bedeutende Verringerung des Schwefelwasserstoffes, des Mercaptans, Indols und Phenols ein. Die Zerstörung des organischen Stickstoffes findet in bedeutend geringerem Grade statt. Die Quantität der flüchtigen und nicht flüchtigen Säuren vergrößert sich, und zwar diejenige der letzteren auf Kosten der Milchsäure.

7. Die Vitalität des B. coli hängt unmittelbar von den erörterten Bedingungen ab. Auf zuckerhaltigen Nährsubstraten (mit Ausnahme des Experiments, bei dem ein $CaCO_3$-Überschuß vorhanden ist) sind sämtliche Mikroben 8 Tage nach Beginn des Experiments bereits zugrunde gegangen. In den übrigen Fällen entwickeln sie sich in größter Quantität auf alkalireichem Nährsubstrat. Jedoch entspricht dabei die größte Bakterienzahl nicht der Intensität des Spaltungsprozesses. Daraus glaube ich folgern zu können, daß in den Bakterienkulturen, von der Anzahl der Bakterien abgesehen, verschiedene biologische Bedingungen entstehen müssen, welche die mehr oder minder energische Zersetzung des Nährsubstrats bedingen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. E. Salkowski für die mir während der Arbeit zuteil gewordene Anleitung an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank zu sagen.

Über racemisches Tryptophan.

Von

Rudolf A. Allers.

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung
[Leiter: S. Fränkel].)

(Eingegangen am 4. August 1907.)

Bis jetzt sind racemische Körper unter den Produkten der tryptischen Verdauung nur in geringer Zahl aufgefunden worden. Auch die nur durch Trypsinverdauung erhältliche Indolaminopropionsäure erwies sich als optisch aktiv; doch bestehen über deren Drehungsvermögen und -Richtung Differenzen zwischen den Autoren.

Hopkins und Cole[1]) fanden als spezifische Drehung ihres Produktes $[\alpha_D] = -33°$; das Lösungsmittel erscheint nicht angegeben.

Neuberg und Popowsky[2]) bestimmten als spezifische Drehung des Tryptophans in wässeriger Lösung $[\alpha_D] = -7{,}8°$. Wurde es in $\frac{1}{2}$ normal Natronlauge gelöst, so zeigte es eine spezifische Drehung $[\alpha_D] = -13{,}7°$.

Demgegenüber drehte das von Abderhalden und Kempe[3]) dargestellte Tryptophan nach rechts; und zwar ergab in Natronlauge gelöstes viermal umkrystallisiertes Tryptophan eine spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +6{,}12°$ bzw. $+6{,}06°$. Diese Autoren untersuchten auch ein von Hopkins dargestelltes Präparat, welches sich gleichfalls als rechtsdrehend erwies. Für dasselbe ermittelten sie $[\alpha]_D^{20} = +6{,}3°$. In salzsaurer Lösung war die Drehung bedeutend geringer, nämlich $[\alpha]_D^{20} = +1{,}31°$.

---

[1]) F. G. Hopkins und S. W. Cole, Journal of Physiology **26**, 1901.

[2]) C. Neuberg und N. Popowsky, diese Zeitschr. **2**, 357, 1907.

[3]) E. Abderhalden und M. Kempe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 1907.

Dagegen zeigte die Untersuchung eines von mir aus Casein dargestellten Tryptophans keinerlei Drehung der Ebene des polarisierten Lichtes. Es handelt sich also um ein racemisches Tryptophan, wie es jüngst von Ellinger und Flamand[1]) synthetisch dargestellt wurde. Worauf diese Racemisierung zurückzuführen ist, vermag ich nicht anzugeben.

Die Isolierung geschah nach der Methode von Neuberg in etwas modifizierter Weise.

2 kg Casein wurden in 10 l 0,8 prozentiger Sodalösung mit 20 g Pankreatin „Rhenania" bei Bruttemperatur durch 8 Tage verdaut, bis die Bromreaktion sehr intensiv ausfiel. Das Verdauungsgemisch wurde erwärmt, filtriert und von dem ausgeschiedenen Tyrosin befreit. Die Flüssigkeit wurde mit 5% konzentrierter Schwefelsäure versetzt und mit einer 10 prozentigen Lösung von Quecksilberoxydsulfat gefällt. Der abfiltrierte Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt und dieser durch einen kräftigen Kohlensäurestrom verjagt. Nach vollkommener Entfernung des Schwefelwasserstoffes wurden wieder 5% Schwefelsäure zugesetzt und mit Quecksilbersulfat nach Neuberg fraktioniert gefällt. Die das Tryptophan enthaltenden Fraktionen wurden wie bei der ersten Fällung behandelt, das Filtrat vom Schwefel-Quecksilber nach Entfernung des Schwefelwasserstoffs mittels Kohlensäure mit 200 g Bleicarbonat versetzt und dann wurde bei 60° Ammoniak bis zum Auftreten eines deutlich ammoniakalischen Geruches hinzugefügt. Die Flüssigkeit wurde heiß filtriert, das in Lösung gegangene Blei mit Schwefelwasserstoff niedergeschlagen und nach Verjagung des letzteren das Filtrat mit dem gleichen Volumen Alkohol versetzt; im Vakuum bis auf etwa ein Viertel eingeengt, mit Alkohol zu dem ursprünglichen Volumen aufgefüllt und neuerdings im Vakuum eingeengt. Dabei krystallisierte ein Teil des Tryptophans aus; eine weitere Portion wurde aus der Mutterlauge durch neuerliches Einengen im Vakuum nach Alkoholzusatz gewonnen. Das gesamte Rohprodukt wurde aus heißem 40—50 prozentigen Alkohol umkrystallisiert. Dabei schied sich eine erste Fraktion in Gestalt weißer Nadeln und Blättchen aus. Aus der Mutterlauge wurde ein mikrokrystallinisches, stark angefärbtes Präparat gewonnen, das aus Wasser

[1]) A. Ellinger und A. Flamand, B. B. 40. 3029, 1907.

umkrystallisiert, sich in Drusen abschied, welche sehr hart und spröde waren.

Die Substanz gibt die Reaktion mit Bromwasser sowie die Hopkins - Adamkiewiczsche Reaktion sehr stark. Desgleichen zeigte sie die von Abderhalden und Kempe beschriebene Braunrotfärbung mit Millons Reagens. Dagegen besitzt sie den bei optisch-inaktivem Tryptophan beschriebenen süßen Geschmack (Ellinger und Flamand). Sie schmeckt schwach süß und brennt etwas auf der Zunge. Eine Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab:

S : 0,2032 g, ccm N : 24,6, t : 24°, b : 758,

daraus

gefunden 13,88% N; berechnet für $C_{11}H_{12}N_2O_2$: 13,72%.

Der Schmelzpunkt des optisch-aktiven Tryptophans ist nach Hopkins und Cole sowie nach Neuberg und Popowsky 273°; nach Abderhalden und Kempe 289°, wobei eine Gelbfärbung von 260° an zu beobachten ist.

Mein Präparat beginnt bei 245° sich zu verfärben und schrumpft allmählich zu einem Faden. Bei 256° treten feine braune Tröpfchen auf und bei 268° ist die Substanz vollkommen zu einer braunen Flüssigkeit geschmolzen.

Dieses Verhalten stimmt sehr gut mit dem von Ellinger und Flamand an der von ihnen synthetisch dargestellten r-Indolaminopropionsäure beobachteten überein. Das durch Kondensation von Indolaldehyd mit Hippursäure und Aufspaltung mittels Natrium in alkoholischer Lösung erhaltene synthetische racemische Tryptophan färbt sich bei 240° gelb, schmilzt bei 256° zu kleinen Tröpfchen und ist bei 263° völlig geschmolzen.

Alle Fraktionen meines Präparates erwiese nsich in wässeriger Lösung als optisch vollkommen inaktiv.[1]) Zur Untersuchung diente ein großer Apparat nach Landolt - Lippich von der Firma Schmidt & Haensch.

Es ist somit hier bei der tryptischen Verdauung ein racemisches Tryptophan entstanden. Ob die Racemisierung auf das angewandte Isolierungsverfahren, vielleicht auf die Ammoniakwirkung zurückzuführen ist, oder in der Verdauung ihren Grund

---

[1]) Herr Abderhalden, dem wir eine Probe dieses Präparates zusandten, konnte diese Beobachtung bestätigen.

hat, läßt sich nicht sagen. Doch haben Neuberg und Popowsky unter gleichen Versuchsbedingungen optisch-aktives Tryptophan erhalten.

Möglicherweise ist dieser Befund des Vorkommens racemischen Tryptophans unter den Produkten der Trypsinverdauung geeignet, die Differenzen, welche zwischen den Angaben der einzelnen Autoren bezüglich des optischen Verhaltens dieser Substanz bestehen, zu erklären.

Verschiedenes über Tryptophan.

(Jodtryptophan. Tryptophansilber. Optisch-inaktives Tryptophan.)

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

I. Jodtryptophan.

Im Januar dieses Jahres haben C. Neuberg und N. Popowsky[1]) über die Halogenderivate des Tryptophans berichtet. Sie konnten in reinem Zustande eine Monohalogen-(Cl- und Br-) Indolaminopropionsäure darstellen, die alle Eigenschaften des seit mehr als 80 Jahre in unreiner Form bekannten violetten Tryptophankörpers besitzt; ferner wurde ein bis dahin unbekanntes Trihalogenderivat beschrieben, das gelb gefärbt ist.

Gelegentlich dieser Untersuchung der Chlor- und Bromabkömmlinge der Indolaminopropionsäure war bereits gefunden worden, daß auch Jod unschwer in das Tryptophanmolekül eintreten kann; über die bereits damals ausdrücklich angekündigte Untersuchung bemerken Neuberg und Popowsky[2]): „Es läßt sich auch Jod, und zwar ziemlich leicht, in die Indolaminoessigsäure einführen (hierüber soll später berichtet werden), so daß außer dem aromatischen Komplex auch der Indolkern der Proteine als Träger des Jods in den Jodeiweißkörpern in Betracht kommt.“

Obgleich die Untersuchung der Jodindolaminopropionsäure (des Jodtryptophans) noch nicht abgeschlossen ist, sei kurz darüber berichtet, da im Juni eine Arbeit von A. Nürnberg[3])

---

[1]) Diese Zeitschr. **2**, 357, 1907 Januarheft.

[2]) l. c. S. 371.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 129, 1907, Juniheft.

veröffentlicht ist, in der ohne Erwähnung der ein halbes Jahr früher erschienenen Mitteilung von Neuberg und Popowsky gleichfalls die Jodierbarkeit des Tryptophans, allerdings ohne nähere Angaben über den entstehenden Körper, angeführt ist.

Löst man Tryptophan in der 2 Mol. Alkali entsprechenden Menge $^n/_2$-KOH oder $^n/_2$-NaOH und fügt eine 2 Atome J enthaltende konzentrierte Lösung von Jod in Jodkalium hinzu, so trübt sich die klare Flüssigkeit sehr schnell, und es beginnt die Ausscheidung eines hellbraunen Niederschlages. Nach 24 Stunden, wo die anfangs alkalische Reaktion einer sauren Platz gemacht hat, vermehrt sich die Menge des Niederschlages nicht mehr; er wird dann auf einem gehärteten Filter abfiltriert oder abgesaugt[1]) und mit Wasser bis zum Verschwinden der Reaktionen auf anorganisches Jod ausgewaschen.

Beim Trocknen im Vakuum nimmt das Jodtryptophan eine hellere, fast gelbliche Färbung an; es ist amorph und verbrennt unter Verbreitung eines Geruches nach Indol. Keine der typischen Tryptophanreaktionen fällt mit dem Jodderivat positiv aus. Es löst sich nicht in Wasser, wenig in Alkohol und kaum in Äther. Alkalien nehmen es leicht auf; die von überschüssigem NH_3 befreite ammoniakalische Lösung gibt mit Silbernitrat, Kupferacetat und Bleiessig Niederschläge.

Nimmt man die Jodierung bei Gegenwart von 3 Mol. Alkali mit 3 Atomen Jod vor, so entsteht ganz ebenso ein Jodtryptophan.

Die zahlreich ausgeführten Analysen, auf deren Wiedergabe im einzelnen verzichtet werden kann, ergaben für die Körper beider Darstellungsarten Zahlen, die auf ein Gemisch von Mono- und Di-jodtryptophan weisen, einmal wurden fast genau für Dijodtryptophan stimmende Werte erhalten; doch können die genauen Bedingungen hierfür vorläufig nicht sicher angegeben werden.

Die Untersuchung des Jodtryptophans und namentlich auch die seines physiologischen Verhaltens wird fortgesetzt.

Von dem früher beschriebenen lebhaft gefärbten roten und gelben Chlor- bzw. Bromtryptophan unterscheidet sich das Jodderivat außer durch die Farbe durch die Unlöslichkeit resp.

[1]) Das Filtrat ist noch von freiem Jod braun gefärbt; auf Zusatz von Essigsäure fällt allmählich eine kleine Menge einer mikrokrystallinischen, jodhaltigen Substanz aus, die noch nicht untersucht ist.

Schwerlöslichkeit in der Mehrzahl der üblichen organischen Solventien.

Die Bindung des Jods ist derartig, daß allem Anschein nach eine Substitution stattgefunden hat, doch läßt sich über den Ort des Eintrittes vorläufig nichts angeben. —

Für den roten Brom- resp. Chlorkörper haben Neuberg und Popowsky (l. c.) früher die Zusammensetzung eines Monohalogentryptophans, z. B. $C_{11}H_{11}N_2O_2Br$, ermittelt, für den gelben die eines Trihalogenderivates. Die gelben Körper sind früher als Perhalogenide, z. B. $C_{11}H_{11}N_2O_2Br_3$, aufgefaßt. Inzwischen hat sich jedoch gezeigt, daß den getrockneten, reinen Trihalogenderivaten nicht die Fähigkeit zukommt, an freie Indolaminopropionsäure Brom bzw. Chlor abzugeben. Deshalb ist es durchaus möglich, daß den Trihalogeniden die (um 2 H-Atome ärmere) Formel $C_{11}H_9N_2O_2(Hlg)_3$ zukommt, was auf analytischem Wege nicht zu entscheiden ist. Intermediär treten aber Perhalogenide wohl unzweifelhaft auf, z. B. die gelben Substanzen, die sich bei Zugabe von Bromwasser zu Tryptophanlösungen an der Berührungsstelle bilden und beim Durchmischen mit der überschüssigen Tryptophanlösung in den typischen roten Körper übergehen. Dieses nehmen auch P. A. Levene und C. A. Rouiller[1]) an, obgleich sie bei den von ihnen dargestellten Gemischen von Monobromtryptophan und höher bromierten Produkten keinen Perbromidcharakter fanden.

II. Tryptophansilber.

Für die analytische Praxis der Eiweißchemie ist die Beobachtung von Interesse, daß Tryptophan unter bestimmten Bedingungen durch Silbersalze und Alkali gelällt wird.

Fügt man zu einer Tryptophanlösung Silbernitrat, so bleibt sie klar, auf vorsichtigen Zusatz von Natronlauge entsteht anfangs ein weißer Niederschlag und später ein gelber bis brauner, die sämtlich viel Tryptophan einschließen.

Setzt man zu einer starken Indolaminopropionsäurelösung wenig Silbernitrat und dann vorsichtig Natronlauge, so erhält man zunächst eine weiße Fällung, die sich in mehr Lauge klar auflöst;

---

[1]) Diese Zeitschr. 4, 322, 1907.

weitere Zugabe von Silbernitrat ruft einen erneuten Niederschlag von weißem Tryptophansilber hervor.

Auch durch Silbersulfat und Baryt wird Tryptophan gefällt, Sämtliche Silberverbindungen sind klar in Salpetersäure und kaltem Ammoniak löslich.

Bemerkenswerterweise werden die ammoniakalischen Lösungen in der Siedehitze unter Bildung eines Silberspiegels reduziert.

Die Fällung des Tryptophans durch Silbersalze und Alkalien ist nicht ganz vollständig, ein Teil bleibt in Lösung; aus dem mit Wasser ausgewaschenen und dann in Wasser suspendierten Silberniederschlag kann das Tryptophan durch genaue Ausfällung des Ag durch HCl oder bequemer mittels H_2S, zweckmäßig unter Zusatz von etwas Essigsäure, völlig rein gewonnen werden.[1])

Ob verschiedene Tryptophansilberverbindungen existieren, ist nicht untersucht; um eine reine, d. h. frei von Silberoxyd oder vielleicht basischen Salzen zu bekommen, verfährt man wie folgt:

Man löst 2,0 g Tryptophan in 8 ccm n-NaOH (etwas weniger als ein Molekül, ca. $^4/_5$ Mol.) und 8 ccm Wasser, fügt nun 10 prozentige Silbernitratlösung hinzu, bis eine eben bleibende Fällung eintritt, filtriert diese ab und fällt nunmehr mit $AgNO_3$ aus. Der entstandene weiße Niederschlag wird nacheinander mit Wasser, Alkohol und Äther ausgewaschen. Er ist auch nach dem Trocknen im Vakuum weiß und, vor direkter Belichtung geschützt, ziemlich beständig; die Substanz ist eine Monosilberverbindung:

0,1453 g Substanz ergaben beim Verglühen, wobei intensiver Skatolgeruch auftritt, 0,0507 g metallisches Silber.

Berechnet für $C_{11}H_{11}N_2O_2Ag$: Ag = 34,72%;
Gefunden : Ag = 34,90%.

Die Fällbarkeit des Tryptophans durch Silbersalze usw. ist nicht auffällig, da es wie die „Diaminosäuren" zwei N-Atome besitzt; es ist nicht ausgeschlossen, daß es unter Umständen die

[1]) Die ausgewaschene Silberverbindung gibt in wässriger Suspension sowohl die Glyoxylsäure- als Bromwasserreaktion; anhaftende Nitrationen stören beide Proben. — Es ist deshalb allgemein bei Anstellung dieser beiden Tryptophanreaktionen die Gegenwart von HNO_3 oder Nitraten möglichst auszuschließen.

letzteren begleitet, wenn sie als Ag-Verbindungen isoliert werden, um so weniger, als Levene und Rouiller (l. c.) gefunden haben, daß bei der Trypsinverdauung auftretende und durch Phosphorwolframsäure fällbare Indolaminopropionsäurepeptide schon durch $AgNO_3$ allein niedergeschlagen werden.

III. Optisch-inaktives Tryptophan.

Die Entdecker der Indolaminopropionsäure, Hopkins und Cole[1]), haben gefunden, daß die Substanz linksdrehend ist, und zwar geben sie die spezifische Drehung zu $-33°$ an. Neuberg und Popowsky (l. c.) fanden ihr mit gewissen Vereinfachungen der Methodik[2]) dargestelltes Tryptophan gleichfalls, aber viel schwächer linksdrehend, in wässeriger Lösung $[\alpha]_D = -7{,}8°$.

Jüngst haben nun E. Abderhalden und M. Kempe[3]) für ein besonders sorgfältig gereinigtes und namentlich von einem bisher unbekannten Begleiter der Indolaminopropionsäure, der Oxy-indolaminopropionsäure (?), $C_{11}H_{12}N_2O_3$, getrenntes Tryptophan Rechtsdrehung ($[\alpha]_D = +6{,}06°$) beobachtet. Diese Angaben konnte ich an dem mir von den Herren Abderhalden und Kempe freundlichst überlassenem Präparate durchaus bestätigen.

Die von Neuberg und Popowsky beobachtete Linksdrehung ist vielleicht auf einen Begleiter des Tryptophans zurückzuführen, der dem damals untersuchten Präparate in analytisch nicht nachweisbarer Menge anhaftete. Ob es sich dabei um das erst später entdeckte Oxy-tryptophan oder etwa um Verunreinigung mit einer Molekularverbindung vom Typus der von E. Fischer und E. Abderhalden[4]) aufgefundenen Kombination Lysin-Tyrosin gehandelt hat, muß dahingestellt bleiben. Unerklärt bleibt auch, warum Hopkins und Cole für ihr analytisch zweifelsohne reines Tryptophan ebenfalls Linksdrehung, und zwar eine für Aminosäuren ausnahmsweise hohe (siehe oben) gefunden haben.

---

[1]) F. G. Hopkins und S. W. Cole, Journal of Physiology **29**, 1903.

[2]) C. Neuberg, Charité-Annalen **30**, 1906.

[3]) E. Abderhalden und M. Kempe, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 207, 1907.

[4]) E. Fischer und E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 540, 1904.

Die Aufklärung der vorhandenen Differenz wurde dadurch erschwert, daß ich das nunmehr öfter als früher (ca. achtmal) umkrystallisierte Tryptophan optisch-inaktiv fand, wenn es nach der von mir angegebenen Modifikation dargestellt war. Daß hierbei — beim Kochen mit Bleicarbonat und Ammoniak — Racemisierung eintreten könne, habe ich schon früher[1]) vermutungsweise geäußert.[2])

Daß Tryptophan tatsächlich leicht racemisiert wird, zeigt der folgende Versuch, zu dem ein nach Hopkins und Cole dargestelltes, also optisch-aktives Präparat benutzt wurde.

4,5 g Tryptophan wurden mit 90,0 ccm HCl von 25% (verteilt auf drei Röhren mit je 1,5 g Tryptophan und 30 ccm HCl) 12 Stunden im Schießrohr auf ca. 170° erhitzt. Die dunkelgefärbte Lösung wurde im Vakuum eingeengt, die Salzsäure durch mehrfaches Nachfüllen von Wasser und Abdampfen in vacuo möglichst entfernt. Der Rückstand wurde in ca. 100 ccm heißem Wasser gelöst und mit Knochenkohle entfärbt. Das aus der mit NH_3 übersättigten und eingedampften Lösung erhaltene Tryptophan war noch immer stark gefärbt, es wurde deshalb in bekannter Weise über die Quecksilberverbindung gereinigt. Man erhält es dann rein und optisch völlig inaktiv; die Ausbeute, auf die allerdings kein besonderer Wert gelegt wurde, betrug nur 25%.[3])

Gefunden: $N = 13{,}9\%$,
Berechnet für $C_{11}H_{12}N_2O_2$: $N = 13{,}7\%$.

0,4033 g Substanz, gelöst in 10,0 ccm n-NaOH, zeigten kein optisches Drehungsvermögen.

Die Reaktionen des optisch-inaktiven Tryptophans sind die gleichen wie die des gewöhnlichen. Die inaktive Indolaminopropionsäure verfärbte sich gegen 240° und schmolz bei 254—255°; mit dem synthetischen Produkt, dessen wichtige Darstellung vom

---

[1]) Diese Zeitschr. 2, 368, 1907.

[2]) Inzwischen ist es von R. A. Allers bewiesen; siehe die voraufgehende Mitteilung in diesem Heft.

[3]) Bekanntlich wird bei der Säurehydrolyse der Proteine das präformierte Tryptophan zum großen Teile zerstört, allerdings wohl nicht allein durch Säurewirkung, sondern wahrscheinlich auch durch Kondensationsreaktionen.

β-Indolaldehyd jüngst A. Ellinger und C. Flammand[1]) gelungen ist, dürfte sie identisch sein, doch ist es nicht besonders festgestellt.

Bei der Ausführung der beschriebenen Versuche habe ich mich der Unterstützung des Herrn Dr. Edelstein zu erfreuen gehabt.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **40**, 3029, 1907.

Altes und Neues von der Katalyse.

Vortrag, gehalten auf dem 11. „Nederlandsch Natuur-en Genees-kundig Congress“ zu Leiden am 5. April 1907.[1])

Von

G. Bredig.

(Aus dem Chem. Universitäts-Laboratorium zu Heidelberg.)

(Eingegangen am 23. August 1907.)

Das große Gebiet der *chemischen Katalyse*[2]) ist in gewisser Beziehung mit dem *australischen Kontinent* vergleichbar. An den *Küstenrändern hochentwickelte Kultur*, blühende Städte, Industrie, Weide- und Ackerland, im Innern noch weite Strecken unerforschten und *unbebauten Landes*.

Wissenschaftliche und technische Bedeutung der Katalyse.

Auch auf dem *katalytischen Kontinent* sehen wir bereits außerordentlich fruchtbare und gut erforschte, für Technik und Wissenschaft, auch für die Biologie hochwichtige Provinzen: Ich brauche hier nur die Darstellung des Stärkezuckers, die Verseifung der Fette und Ester, die Bleikammer, den Platin- und Eisenoxyd-

---

[1]) Mit einigen kleinen Änderungen aus den „Handelingen“ des obigen Kongresses, Leiden 1907.

[2]) Über Katalyse, Allgemeines, Geschichte und Literatur bei: Bodlaender, Über langsame Verbrennung, Stuttgart 1899. — Ostwald, Grundriß der allgemeinen Chemie 1899; Leitlinien der Chemie 1906; Über Katalyse, Leipzig 1902; Naturphilosophie 1902. — Arrhenius, Immunochemie, Leipzig 1907; Theorien der Chemie, Leipzig 1906. — Nernst, Theoret. Chemie 1907. — Herz, Lehre von der Reaktionsbeschleunigung, Stuttgart 1906. — Hoeber, Physikalische Chemie der Zelle u. d. Gewebe, Leipzig 1906. — Cohen, Vorträge für Ärzte üb. physik. Chem., Leipzig 1907. — Hamburger, Osmotischer Druck u. Ionenlehre i. d. mediz. Wiss., Wiesbaden 1904. — Bredig, Elemente der chemischen Kinetik in Spiro u. Ashers Ergebn. d. Physiol. 1902 — Schade, Bedeutung der Katalyse in der Medizin, Kiel 1907. — Bodenstein, Chem.-Zeitg. 26, 1075, 1902. — Mellor, Chemical Statics and Dynamics, London 1904.

kontaktprozeß, die Oxydation des Naphthalins zu Phthalsäure bei der Indigofabrikation, den Deaconprozeß, die Inversion der Terpene, die Herstellung von Anilinschwarz mit Vanadin, die Reaktionen von Friedel-Crafts mit $AlCl_3$, die Kondensationen mit Chlorzink, Schwefelsäure usw., die Reduktionen unter der Kontaktwirkung von Nickel nach Sabatier, die Herstellung von Äthyläther, die Sandmeyer-Gattermannschen Reaktionen, die Umlagerungen der Hydrazokörper in Benzidin, die Ostwaldsche Katatypie und die Herstellung von Salpetersäure aus Ammoniak, die Spaltung der Fette mit Ricinusenzym nach Connstein, Hoyer und Wartenberg, die Verdauungs- und Gärungsfermente u. a. zu erwähnen, um Ihnen zu zeigen, wie groß und mannigfaltig bereits die Anwendungen der Katalyse in der Technik und der chemischen Synthese[1]) sind. Schier unübersehbar ist daneben auch bereits die Anzahl wissenschaftlicher Forschungsarbeiten auf diesem Gebiete. Ich erinnere hier nur an die Arbeiten von Wilhelmy, Ostwald, Arrhenius, Reicher, Wijs, Goldschmidt u. a. über die Zuckerinversion und die Esterspaltung, von Schoenbein, Keßler, Engler, van 't Hoff, Jorissen, Manchot, Haber, Luther und Schilow über Autoxydation und gekoppelte Reaktionen[2]), von Duclaux, Tammann, Henri, Herzog, Bertrand, Bodenstein und Dietz, Senter, Issajew, Brown, Armstrong, Sjöquist, Fuld, Spiro, Aberson, de Visser, Barendrecht, Euler, Michaelis und Abderhalden, Burian u. a. über die Fermentkinetik[3]), ich brauche aber auch nur hinzuweisen, wie sich auf diesem Felde noch die interessantesten *ungelösten* Probleme, wie z. B. die *Ursache* der Fermentwirkung, der Platinkatalyse, der Esterbildung, der Zuckerinversion usw. darbieten, um *angesichts dieses Riesenmaterials* Ihre Verzeihung dafür zu erlangen, daß es mir unmöglich ist, an dieser Stelle bereits eine umfassende Darstellung dieses ungeheuren und zum Teil noch unerforschten Gebietes zu geben.

---

[1]) Vgl. Bodlaender, Zeitschr. f. Elektrochem. **9**, 732, 1903; Internat. Kongreß f. angew. Chem. Berlin **1903**, **4**, 624.

[2]) Engler und Weißberg, Kritische Studien über Autoxydation, Braunschweig 1904. — Luther und Schilow, Zeitschr. f. physikal. Chem. **46**, 777, 1903.

[3]) Vgl. Arrhenius, Immunochemie 1907. — Hamburger, l. c. — Hoeber, l. c.

Ich muß daher hier darauf verzichten, Ihnen wie ein systematischer Geograph eine vollständige Landkarte des großen katalytischen „Erdteiles" vor Augen zu führen, sondern will mich nur darauf beschränken, Ihnen einige Stücke aus meiner und meiner Genossen „Jagdbeute" vorzuzeigen, die ich von unserer Forschungsreise durch die Prärien und Gebirge des interessanten katalytischen Kontinents heimgebracht habe, und ich kann dabei nur gelegentlich auf die Marschrouten und gewiß oft viel wichtigeren Entdeckungen anderer Forscher hinweisen.

Katalyse durch Hydroxylion (Hyoscyaminumlagerung).

Das Land der Katalyse, welche nach Ostwald als „Beschleunigung chemischer Reaktionsgeschwindigkeiten durch fremde Zusätze" definiert[1]) wird, betrat ich zum ersten Male vor nunmehr 19 Jahren und zwar bei einem praktischen Problem aus der Alkaloidchemie. Man hatte nämlich *in der Technik* beobachtet, daß bei der Darstellung des in der Heilkunde viel angewandten Atropins $C_{17}H_{23}NO_3$ aus *derselben* Pflanzenwurzel oft ein Gemenge dieses Alkaloids mit seinem *Isomeren*, dem *Hyoscyamin*, erhalten wurde und zwar je nach der Methode *in wechselnden* Verhältnissen aus *demselben* Rohmaterial.

Mein damaliger Lehrer, W. Will, beobachtete nun, daß das *Hyoscyamin in Gegenwart einer Spur Natronlauge sich in das stabilere Atropin umlagerte.* Je nach *Art* und *Einwirkungsdauer* des *fällenden Alkalis* mußte man also aus *derselben* Wurzel bald *Hyoscyamin* bald das durch *Umlagerung* daraus entstandene *Atropin* erhalten. Die genauere Untersuchung[2]) des Vorganges zeigte in der Tat, daß es sich um die katalytische Wirkung von Basen handelte.

Die Basen wirkten in derselben Reihenfolge auf die im Polaristrobometer optisch gemessene Umwandlungsgeschwindigkeit, wie

---

[1]) Ostwald, Grundriß der allgemeinen Chem. 3. Aufl. S. 514, Zeitschr. f. physikal. Chem. **15**, 706, 1894. Ob sich dieser „fremde" Zusatz der „Katalysator", dabei auch selbst mehr oder weniger oder gar nicht *verändert* oder an einem schließlichen Gleichgewicht teilnimmt, bleibt nach *neueren* Definitionen (vgl. Spiro u. Ashers Ergebn. d. Physiol. **1**, 192 u. 196, 1902, u. Zeitschr. f. Elektrochem. **9**, 734, 1903) zunächst außer Betracht bzw. nur im besonderen Falle zu berücksichtigen.

[2]) W. Will und G. Bredig, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **21**, 2777, 1888; siehe auch A. Ladenburg, ebenda **21**, 3065.

sie nach Ostwalds und meinen späteren Messungen den elektrischen Strom zu leiten vermögen, es handelte sich also im Sinne der damals eben aufgetauchten *Ionentheorie* von Arrhenius um das allen Basen gemeinsame Hydroxylion.

Es war das damals meines Wissens der erste kinetisch gemessene Fall einer Katalyse durch Hydroxylion.

Ein ähnlicher Fall ist die Racemisierung der Weinsäure[1]) durch Alkalien, welche von Holleman und Boeseken und neuerdings sehr ausführlich von Winther untersucht worden ist.

In neuerer Zeit haben dann auch Levy, Trey und Osaka die Multirotation der Zuckerarten ebenfalls auf eine Katalyse durch *Hydroxylion* zurückgeführt und die schönen Arbeiten von Lobry de Bruyn mit Alberda von Ekenstein über die wichtigen Umlagerungen der Zuckerarten Glucose, Fructose und Mannose *ineinander* unter dem Einflusse von Alkalien gehören ebenfalls hierher.

Auch die Synthese der Acrosen (Loew, Fischer und Tafel) aus Glycerinaldehyd oder Formaldehyd unter dem Einflusse von Baryt sei erwähnt, ferner der Zerfall von Chloralhydrat mit überschüssigem Alkali nach Enklaar, sowie die Umlagerung von Bromamiden nach van Dam und Aberson.

Einen *besonders schönen Fall* von katalytischer Wirkung des OH-Ions hat Koelichen[2]) in Ostwalds Laboratorium untersucht bei dem Zerfall des Diacetonalkohols zu Aceton.

$$CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot C(CH_3)_2 \cdot OH \rightleftarrows 2\,CH_3 \cdot OC \cdot CH_3\,.$$

Auch hier zeigten die verschiedenen Basen Natriumhydroxyd, Piperidin, Triäthylamin, Ammoniak dieselbe Reihenfolge ihrer katalytischen Wirkung auf die im Dilatometer gemessene Reaktionsgeschwindigkeit, wie bei ihrer elektrischen Leitfähigkeit.

Katalyse und chemisches Gleichgewicht.

Koelichen lieferte ein schönes Beispiel für den übrigens auch aus Messungen von Lemoine für die *Jodwasserstoffspaltung* und von *Turbaba* für die *Paraldehydbildung* belegten und nach van 't Hoff und Ostwald aus dem II. Hauptsatz der Thermo-

---

[1]) Recueil trav. chim. Pays-Bas **17**, 66, 1897; Zeitschr. f. physikal. Chem. **56**, 465 u. 719, 1906.

[2]) Koelichen, ibid. **33**, 149, 1900.

dynamik folgenden Satz, *daß ein Katalysator, wenn er sich selbst bei seiner Wirkung nicht* verändert, *das* Gleichgewicht *der katalysierten Reaktion* nicht *verschieben kann.*

So erhielt Koelichen bei 25° für die obige Reaktion:

Mit dem Katalysator:	Bei der Katalysatorkonzentration	Die Gleichgewichtskonstante K
Piperidin	0,109	0,038
Triäthylamin	0,49	0,036
Ammoniak	0,55	0,038
Tetraäthylammoniumhydroxyd .	0,076	0,037
	0,0076	0,037
Natriumhydroxyd	0,0725	0.036
	0,0072	0,035

Die *Gleichgewichtskonstante* K ist also unabhängig von Art und Konzentration der katalysierenden Base.

Rolle der Katalyse in der Phasenlehre.

Obige Tatsache ist insofern von Wichtigkeit, weil sie bis zu einem gewissen Grade den genialen Kunstgriff des unersetzlichen Bakhuis Roozeboom[1]) und seiner Mitarbeiter, besonders Hollmann und Suyver, *rechtfertigt,* durch *Zusatz einer geringen Menge* eines solchen Katalysators wie z. B. H_2SO_4 aus einem binären ein pseudounäres System zu machen, also z. B. aus dem *binären* System *Aldehyd + Paraldehyd* ein *pseudounäres* zu machen, in welchem sich *dank dem Katalysator* das Gleichgewicht zwischen beiden Aldehydformen genügend rasch ausbildet, so daß man nur mit *einer* Komponente zu rechnen braucht.

Katalyse durch Wasserstoffion.

Ungleich ausführlicher als die Hydroxylionkatalyse ist die katalytische Wirkung des *Wasserstoffions* kinetisch untersucht worden, ja sie spielt, wie bekannt, eine historisch grundlegende Rolle in der Ionentheorie:

Die Arbeiten von Arrhenius, Ostwald und ihren Schülern (Trevor, Schmidt, Palmaer, Kullgren, Euler, Lunden u. a.) über die Proportionalität zwischen H-Ionengehalt der Säuren

1) Vgl. Zeitschr. f. physikal. Chem. **53**, 449, 1905; Recueil **24**, 377,1905.

und der Geschwindigkeit, mit welcher sie die Esterverseifung und Zuckerinversion vollziehen, sind zu bekannt, als daß ich hier darauf einzugehen brauchte. Die *Zahl der Katalysen*, welche das H-Ion besonders in der organischen Chemie bewirkt, ist Legion, wenn sie auch nicht immer der *quantitativen*, kinetischen Messung zugänglich sind. Hier sei nur noch an die Arbeiten von Henry, Hjelt und Uno Collan über die Bildung und Hydrolyse der Lactone, von Wijs über die Esterverseifung durch *Wasser*, von van Loon über die Benzidinbildung, von Schoorl über die Harnstoffverbindungen der Zuckerarten, von Blanksma über die Umlagerung gechlorter Acetanilide, von Fawsitt über die Hydrolyse des Harnstoffs, sowie an die bekannten, schönen Arbeiten H. Goldschmidts und seiner Schüler über die Anilid- und Esterbildung, die Farbstoffkuppelung und die Umlagerung von Diazoamidokörpern erinnert.

Diazoessigester-Methode.

Eine enorm empfindliche und leicht quantitativ zu messende *H-Ionkatalyse* ist unlängst unter meiner Leitung von Herrn Walter Fraenkel[1]) in Heidelberg kinetisch genau untersucht worden. Es handelt sich um die bereits vor langer Zeit von Curtius beobachtete, in saurer Lösung sich rapid vollziehende Reaktion des Diazoessigesters mit Wasser:

$$N_2 : HC \cdot CO_2C_2H_5 + H_2O = OH \cdot H_2C \cdot CO_2C_2H_5 + N_2,$$

wobei die entweichende Stickstoffgasmenge in sehr bequemer Weise in jedem Augenblicke an einer *Gasbürette* abgelesen werden kann. Wenn man dafür sorgt, daß durch eine Schüttelmaschine im Thermostaten jederzeit die *Gasübersättigung* vermieden wird, so kann man mit Leichtigkeit zu gleicher Zeit vier Versuche beobachten. *Die Geschwindigkeitskonstante k der Reaktion erwies sich der H-Konzentration C_H proportional*, wie die letzte Tabellenspalte zeigt.

Die Methode ist schon bei *Zimmertemperatur* viel empfindlicher als die Zuckerinversion oder Methylacetatverseifung und gleich-

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **11**, 525, 1905; Verhandl. d. naturhist. med. Vereins Heidelberg, N. F., **9**, 1, 1907; Zeitschr. f. physikal. Chem. **60**, 202, 1907.

wohl (bei Ausschluß von Nebenreaktionen) ebenso genau, wie folgende *Tabelle* zeigt:

Säure	Konz. der Säure in Mol. pro l	C_H aus elektr. Leitfähigkeit	k bei 25°	$k_h = \frac{k}{C_H}$.
Salpetersäure	0,00182	0,00182	0,0703	38,7
	0,000909	0,000909	0,0346	38,0
Pikrinsäure	0,000909	0,000909	0,0356	39,2
	0,000364	0,000364	0,0140	38,3
m-Nitrobenzoesäure . .	0,00990	0,00168	0,0632	37,7
Fumarsäure	0,00364	0,00146	0,0571	39,1
Bernsteinsäure	0,00909	0,000724	0,0285	38,5
Essigsäure	0,0182	0,000563	0,0218	38,7
				38,5 Mittel

Auch der Zusatz von Natriumacetat zeigt mit genügender Genauigkeit seinen abstumpfenden Einfluß auf die Essigsäure, wie ihn die Theorie der isohydrischen Lösungen verlangt, nach welcher die saure katalytische Wirkungskonstante k, also auch die ihr proportionale Konzentration C_H des H-Ions, einer schwachen Säure in berechenbarer Weise nach dem Massengesetz zurückgehen muß, wenn man das Neutralsalz derselben zusetzt:

Essigsäure. Säurekonz.	Natriumacetat. Salzkonz.	C_H · berechnet nach isohydr. Prinzip	k	$_h = \frac{k}{C_H}$.
0,0909	0	0,00127	0,0500	39,4
	0,00227	0,000584	0,0234	40,0
	0,00455	0,000351	0,0144	40,9
	0,00909	0,000192	0,0080	41,7
0,0182	0	0,000563	0,0220	39,0
	0,000909	0,000276	0,0109	39,3
0,0227	0,00227	0,000171	0,0069	40,3

Während man also bisher und mit Recht den Diazoessigester (gerade so wie das Wasserstoffsuperoxyd) für eine *äußerst leicht zersetzliche Substanz* gehalten hat, beherrschen wir jetzt also mit Hilfe der Lehre von der H-Ionenkatalyse diese Umsetzung zu Glykolsäureester quantitativ und zwar als eine Reaktion erster

Ordnung, ja sie hat sich sogar als eine der empfindlichsten, raschesten *und genauesten kinetischen Methoden erwiesen, um H-Ionenkonzentrationen bei* 25° *sogar noch in einer Verdünnung von* $^1/_{1000}$ *bis* $^1/_{10000}$ *normal bis auf wenige Prozente* (also bis auf ungefähr zehn Milliontel Milligramme H-Ion pro Kubikzentimeter) *genau zu messen.*

Ionenacidität des Kaliumdichromates und der Chromsäure.

Mit Hilfe dieser Methode ist es daher z. B. Herrn Spitalsky[1]) in unserem Institut auch gelungen, sogar genau festzustellen, wie sauer Kaliumdichromat bzw. wie weit es in *Lösung* in Monochromat und freie Chromsäure zerfallen ist, *ein Problem, dessen genaue und sichere Lösung bisher nicht möglich war.* Da wir ja jetzt wissen, wie schnell Diazoessigester durch eine H-Ionenlösung *bekannter* Konzentration zersetzt wird, so braucht man ja nur die katalytische Wirkung einer *beliebigen* Lösung auf denselben Ester zu *messen* und damit zu *vergleichen*, um den H-Ionengehalt dieser Lösung durch Proportionalität zu erfahren. So erhielt Spitalsky für *Kaliumdichromatlösungen* bei 25° folgendes Resultat:

Konzentration des $K_2Cr_2O_7$ in Mol. pro l	$k \cdot 10^4$	C_H · in Mol. pro l
0,2208	173	0,000449
0,1206	117	0,000304
0,1012	100	0,000260
0,0603	72,2	0,000188
0,0483	65,2	0,000169
0,0302	48,8	0,000127
0,0169	37,8	0,000098

Man sieht also, daß selbst in den verdünntesten Lösungen das Kaliumdichromat noch nicht 1% seiner Säure als H˙-Ion hydrolytisch abgespalten hat.

Da Spitalsky ferner mit derselben Methode nachweisen konnte, daß *freie* Chromsäure ihre H-Ionen bei den betreffenden

---

[1]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. **54**, 265, 1907. Herrn Sand war mit einer anderen ziemlich unsicheren kinetischen Methode nur die Feststellung der Größenordnung gelungen; Zeitschr. f. anorgan. Chem. **52**, 101, 1907.

Verdünnungen *vollständig* abspaltet, so wird durch den äußerst geringen H-Iongehalt der Bichromatlösungen auch die von anderer Seite aufgestellte Behauptung widerlegt, daß Bichromat in verdünnten Lösungen stark in Monochromat und freies CrO_3 zerfallen sei. Wir sehen also, wie man häufig derartige Fragen über den Zustand gelöster Stoffe durch katalytische Messungen entscheiden kann.

Amphotere Elektrolyte.

In neuester Zeit haben J. Walker und seine Mitarbeiter auch unsere Methode benutzt, um die H-Ionenkonzentration amphoterer Elektrolyte zu bestimmen. Unter *amphoteren Elektrolyten* versteht man Stoffe, wie z. B. Amidoessigsäure oder Bleihydroxyd, welche sowohl als Säure wie als Base funktionieren können. Auf solche Stoffe habe ich *zuerst im Jahre 1899* die Theorie der Ionengleichgewichte und das Massengesetz angewandt und zuerst auch Herrn K. Winkelblech[1]) veranlaßt, die Affinitätsgrößen derselben Körper sowohl als Base wie als Säure aus der Hydrolyse ihrer Chlorhydrate und Natronsalze zu ermitteln. Auf diesem Wege haben wir z. B. die (nur auf den ersten Blick) scheinbar paradoxe Tatsache festgestellt, daß die *stärkere* Säure auch zugleich die *stärkere* Base sein kann: So erhielten wir z. B. sowohl bezüglich ihrer basischen wie ihrer sauren Eigenschaften die *Reihenfolge*: m-, p-, o-Amidobenzoesäure oder ebenso die Reihe Glykokoll, Sarkosin, Betain. In einer Lösung einer amphoteren Säure, z. B. der Anthranilsäure, kann man nicht wie bei Essigsäure aus der *Leitfähigkeit* der freien Säure auf die Konzentration des H-Ions schließen, weil die Säure *neben ihrem Anion* und H-Ion ja als Base auch noch ihr eigenes Kation (also ein Salz mit sich selbst) bildet, und aus diesem Grunde habe ich gerade die obige kinetische Diazomethode ausgebildet, um mit ihr durch Katalyse die *H-Konzentration* solcher amphoterer Säuren *direkt* zu bestimmen.

Inzwischen haben aber J. Walker und seine Schüler sowie Lunden die Untersuchung der amphoteren Elektrolyte rechnerisch und experimentell sehr sorgfältig weiter ver-

---

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **6**, 33, 1899; Zeitschr. f. physikal. Chem. **36**, 546, 1901.

folgt und Herr Cumming hat auch *unsere Diazomethode* angewandt.[1])

So fand er im Mittel für eine $^1/_{32}$ normale *Anthranilsäurelösung* $C_H = 0{,}000275$, während Walker nach meinen Gleichungen[2]) aus dem Massengesetz und der Leitfähigkeit unter gewissen Annahmen *berechnet* $C_H = 0{,}00027$.

Außer dem H-Ion und dem OH-Ion gibt es auch noch andere Ionen, welche *zuweilen für bestimmte Vorgänge katalytisch* wirken können:

Katalyse durch Jodion.

Ein solches Ion ist z. B., wie ich in einer Arbeit in Gemeinschaft mit Herrn J. H. Walton[3]) gezeigt habe, das Jodion. Seit langer Zeit, besonders seit Schoene, ist bekannt, daß *Wasserstoffsuperoxyd* in Gegenwart von Jodkalium in Wasser und Sauerstoffgas zerfällt. Wir konnten nun zeigen, daß es sich hier um eine Reaktion erster Ordnung handelt, welche vom Jodion proportional seiner Konzentration katalysiert wird:

Katalysator	Konzentration in Äquivalenten pro 1	Geschwindigkeitskonstante k_{25}	$\frac{k}{\text{Konzentration}}$
	0,00699	0,00945	1,35
K J	0,02065	0,02787	1,35
	0,03684	0,04761	1,29
	0,00616	0,00813	1,31
Na J	0,01840	0,02419	1,31
	0,03678	0,04810	1,32
	0,01344	0,01807	1,35
NH_4 J	0,02656	0,0357	1,35
	0,03947	0,0529	1,34
	0,00976	0,00947	0,97
½ Cd J_2	0,0389	0,02796	0,72
	0,0842	0,0453	0,54

Falls das *Jodion* hier der Katalysator war, so mußten, wie nach der Ionentheorie aus der *elektrischen* Leitfähigkeit voraus-

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 578, 1907.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**. 4140, 1904.

[3]) Zeitschr. f. Elektrochem. **9**, 114, 1903; Zeitschr. f. physikal. Chem. **47**, 185, 1904.

gesagt werden konnte und die *letzte Spalte der Tabelle* in der Tat zeigt, *äquivalente* Mengen der verschiedenen Salze KJ, NaJ und NH_4J, da sie *gleichviel* Jodion enthalten, *gleich stark und proportional ihrer Konzentration katalytisch wirken*, dagegen das *viel weniger* ionisierte *Jod admium* viel weniger und nicht proportional seiner Konzentration, was die Erfahrung, wie man sieht, bestätigt.

Falls wir ferner im Jodkalium das Jodion durch Zusatz von freiem Jod nach Jakowkin in inaktives Trijodion überführen oder nach Abegg und Sherill durch Zusatz von Quecksilberjodid in ein inaktives *komplexes Anion*, so *muß die Katalyse* und damit die Geschwindigkeitskonstante k *vermindert* werden, obwohl wir die Bruttomenge des Jods durch den Zusatz vermehren, was folgende Tabelle bestätigt.

Konzentr. des KJ	Konzentration des Zusatzes	k_{25^0}	C_{Jodion} katalytisch gefunden	C_{Jodion} nach Jakowkin berechnet
0,0313	J_2 = 0,00000	0,04145	—	—
	0,00299	0,03698	0,0279	0,0285
	0,00840	0,03094	0,0230	0,0230
	0,01563	0,02245	0,0167	0,0169
0,0313	HgJ_2 = 0,00205	0,0364		
	0,00798	0,0233		
	0,01315	0,0145		

Der Mechanismus der Reaktion besteht nach allem, was wir darüber wissen, in der Aufeinanderfolge von zwei Stufenreaktionen unter Zwischenbildung von *unterjodiger* Säure:[1])

I. $H_2O_2 + J' = H_2O + JO'$ meßbar langsam;

II. $H_2O_2 + JO' = J' + O_2 + H_2O$ bekanntlich sehr rasch.

Summa: $2\,H_2O_2 = 2\,H_2O + O_2$.

Es ist klar, daß dann entsprechend unserem Befunde die Entwicklungsgeschwindigkeit des Sauerstoffgases der jeweiligen Konzentration des H_2O_2 und der in II. stets regenerierten und daher konstanten *Jodion*konzentration sein muß. Die *intermediäre Hypojoditbildung* verrät sich auch durch eine vorübergehende

[1]) Vermutlich handelt es sich übrigens in der zweiten Stufe überhaupt um die Reaktion der hydrolytisch abgespaltenen freien HJO, was aber unsere obigen Betrachtungen nicht wesentlich verändert.

alkalische Reaktion (Hydrolyse der Hypojodite) und Braunfärbung (Auftreten freier Jodspuren) des Reaktionsgemisches.[1])

Adiabatische Reaktionskinetik.

Die außerordentlich gute Präcision, mit welcher man durch gemessene Jodkaliumzusätze die isotherme *Geschwindigkeit der Reaktion* vorausberechnen und *regulieren* konnte, und die starke Wärmeentwicklung der Reaktion veranlaßten mich, in Gemeinschaft mit Herrn F. Epstein[2]) ein anderes Problem in Angriff zu nehmen, nämlich die *Theorie der chemischen Selbsterhitzung* (homogener Systeme) oder die *adiabatische Reaktionskinetik.* Während man nämlich bisher immer nur im *Thermostaten isotherme* chemische Kinetik getrieben hatte, konnten wir auch einmal fragen, wie *heiß* und wie *weit* zersetzt wird ein chemisches System nach bestimmter Zeit geworden sein, wenn wir *adiabatisch* z. B. im Dewar-Weinholdschen Gefäße arbeiten.

Nach dem *Massengesetze* haben wir für die Geschwindigkeit einer Reaktion n-ter Ordnung bei zunächst konstanter Temperatur T_x:

$$\text{I)} \qquad \frac{dx}{dz} = k_{T_x} (a - x)^n \text{ (Massengesetz)},$$

worin x umgesetzte Menge, a anfängliche Menge des H_2O_2 pro Liter, T_x die Temperatur und z die Zeit bedeuten.

Nun ist aber nach van 't Hoff-Arrhenius k noch eine *Temperaturfunktion,* nämlich

$$\text{II)} \qquad k_{T_x} = e^{E - \frac{A}{T_x}} \text{ (\textit{Temperaturfunktion} der Geschwindigkeit)},$$

worin E und A Konstanten der Reaktion bedeuten
Wir erhalten also:

$$\text{III)} \qquad \frac{dx}{dz} = e^{E - \frac{A}{T_x}} (a - x)^n .$$

Wir haben ferner zwischen der *Wärmekapazität* w_b für einen Liter des Systems, der *Wärmetönung* q pro Grammformelgewicht,

---

[1]) Vgl. auch die Abhandlung von J. Brode, Zeitschr. f. physikal. Chem. **49**, 208, 1904 und neuerdings E. Abel, Zeitschr. f. Elektrochem. **13**, 555, 1907.

[2]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. **42**, 341, 1904; „Geschwindigkeit der chemischen Selbsterhitzung". Diss. Heidelberg 1905.

der jeweiligen Temperatur T_x und der schließlichen *Endtemperatur* T_ε die sogenannte *calorimetrische* Gleichung:

IV) $$(a - x)\, q = w_b\, (T_\varepsilon - T_x).$$

Aus III) und IV) folgt schließlich der Ausdruck für die *Geschwindigkeit der chemischen Selbsterhitzung* eines adiabatisch reagierenden Systems zu:

V) $$\frac{d\,T_x}{d\,z} = e^{E - \frac{A}{T_x}} \cdot \left(\frac{w_b}{q}\right)^{n-1} \cdot (T_\varepsilon - T_x)^n$$

und für eine Reaktion *erster* Ordnung ($n = 1$) der einfachere Ausdruck:

VI) $$z = e^{-E} \int_{T_1}^{T_2} \frac{e^{\frac{A}{T_x}}}{T_\varepsilon - T_x}\, d\,T_x;$$

z ist hier die *Zeit, welche das System braucht, um sich durch chemische Reaktion von* T_1 *auf* T_2 *zu erhitzen.*

Dieselbe kann also *aus zwei Konstanten* E und A, die der Reaktion *eigentümlich* sind und von denen vermutlich nur noch E von der Katalysatormenge abhängt, *vorausberechnet* werden.

Gleichung VI haben wir in der Tat durch *Messung* der Selbsterhitzungsgeschwindigkeit beim Zerfall von H_2O_2 unter dem *katalytischen* Einflusse *eingespritzter Jodkaliumlösung* verifizieren können und so wohl zum ersten Male mit Hilfe des Thermometers Reaktionsgeschwindigkeiten von wenigen Minuten quantitativ gemessen, z. B.:

$C_{H_2O_2}$ = 1,85 Mol. pro l; C_{JK} = 0,1284 Mol. pro l; A = 6980, E = 21,86.

$T_x = 273° +$	28°,00	31°,50	35°,00	38°,50	42°,00	45°,00	49°,00	52°,50	56°,00
Zeit z beob.	0	24	46	66	85	104	126	155	208
in Sek. ber.	0	26	48	70	89	108	129	156	207
$\frac{dz}{dT_x} =$		6,9	6,3	5,7	5,4	5,4	6,3	8,3	15,1

Auf interessante *Einzelheiten*, wie auf die von der Katalysatormenge und Geschwindigkeit unabhängige Temperatur der *Wendepunkte* der Zeittemperaturkurven, auf das aus der letzten Tabellenzeile ersichtliche Maximum der Selbsterhitzungsgeschwindigkeit, sowie auf die zuerst mit dem Thermometer gefundene Änderung der Reaktionsordnung in sehr konzentrierten H_2O_2-Lösungen, können wir hier nicht eingehen. Zurzeit wird die adiabatische Reaktionskinetik in Heidelberg auch an dem Beispiele der Diazoessigesterkatalyse weiter studiert.

Katalyse durch Cyanion.

Gerade so wie das $H^{\cdot}$-, das OH', das J'-Ion, so kann auch das *Cyanion* katalytisch wirksam sein. Eine solche Reaktion ist dem Organiker längst bekannt, es ist die bekannte Kondensation von Benzaldehyd zu Benzoin nach der Gleichung:

$$2\,C_6H_5 \cdot COH = C_6H_5 \cdot CO \cdot CH(OH) \cdot C_6H_5$$

unter dem Einflusse von Cyankalium.

Diese Reaktion habe ich in Gemeinschaft mit Herrn E. Stern[1]) untersucht. Sie hat eine kinetische Reaktionsgleichung zweiter Ordnung und die *Konstante* k *derselben erwies sich proportional*

Cyanionenkatalyse bei der Benzoinsynthese (Temp. 60°).

$C_{Aldehyd}$ Mol. pro l	C_{Cyanid} Äquiv. pro l	Geschwindigkeitskonstante k	$\frac{k}{C_{Cyanion}}$
	als KCy		
0,318	0,050	0,0045	0,090
0,530	0,067	0,0061	0,091
0,382	0,100	0,0086	0,086
0,264	0,132	0,0122	0,092
0,764	0,200	0,0177	0,089
0,529	0,200	0,0186	0,093
0,380	0,200	0,0179	0,089
0,232	0,200	0,0178	0,089
0,528	0,264	0,0226	0,086
0,530	0,300	0,0258	0,086
0,264	0,400	0,0340	0,085
	Als NaCy		
0,382	0,200	0,0185	0,092
	als $^1/_2$ $BaCy_2$		
0,530	0,093	0,0078	0,084
0,383	0,130	0,0109	0,084
	Komplexbildung.		
0,381	{0,195 KCy frei + 0,072 KCy als $KAgCy_2$}	0,0165	0,085
0,383	{0,196 KCy frei + 0,104 KCy als $KAgCy_2$}	0,0163	0,083
0,383	{0,200 KCy frei + 0,100 KCy als K_2HgCy_4}	0,0191	0,095

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **10**, 582, 1904; Zeitschr. f. physikal. Chem. **50**, 513, 1905.

der Konzentration des Cyanions, gleichgültig ob man dasselbe in Form von *KCy oder NaCy oder* $BaCy_2$ *zusetzte* (vgl. die letzte Spalte der Tabelle S. 296). Ebenso wie die Wirkung des Jodions auf H_2O_2 *verschwand*, als man das Jodion in Komplexe überführte, so verschwand auch die Wirkung des Cyankaliums in dem Maße, als man das Cyanion durch Zusatz von Cyansilber oder Cyanquecksilber in Komplexe überführte, *obwohl* man die Bruttomenge des *Cyans* in der Lösung durch diese Zusätze sogar *vermehrte*, wie die *Tabelle* zeigt.

Auch bei dieser Katalyse ist eine *Zwischenreaktion* mehr als wahrscheinlich gemacht, indem das Cyanion zuerst mit dem Benzaldehyd zu einem Anion des Mandelsäurenitrils sehr rasch bis zu einem Gleichgewichte zusammentritt,

$$\text{I)}\quad C_6H_5 \cdot C{\overset{O}{\underset{H}{\lessgtr}}} + CN' = \underset{\text{Anion des Mandelsäurenitrils}}{C_6H_5 \cdot C{\overset{O'}{\underset{H}{\lessgtr}}}CN} \quad \text{(unmeßbar schnell)},$$

welches dann weiter mit einem Moleküle Benzaldehyd unter Rückbildung des Cy-Ions meßbar langsam Benzoin bildet:

$$\text{II)}\quad C_6H_5 \cdot C{\overset{O'}{\underset{H}{\lessgtr}}}CN + \overset{H}{CO} \cdot C_6H_5 = \underset{\text{Benzoin}}{C_6H_5 \cdot C{\overset{OH}{\underset{H}{\lessgtr}}}{-}CO \cdot C_6H_5} + CN'$$

Wir konnten in der Tat zeigen, daß bei 0° die elektrische Leitfähigkeit des *Cyankaliums durch Benzaldehydzusatz erheblich* und in umkehrbarer Weise *vermindert* wird, sich also eine Verbindung beider bildet. In der Tat ist eine solche aus dem Gemische auch von Lapworth isoliert worden, die wir als das bei der Katalyse intermediär (nach I) auch in Lösung entstehende Kaliumsalz des Mandelsäurenitrils auffassen.

Katalyse durch Dichromation.

Außer dem $H^{\cdot}$-, OH'-, J'-, Cy'-Ion ist auch das *Dichromation* Cr_2O_7'' von Herrn Spitalsky[1]) in Heidelberg als katalytisch äußerst wirksam, und zwar für die Zersetzung erster Ordnung von H_2O_2 zu H_2O und O_2-Gas festgestellt worden, wie folgende Tabelle zeigt:

---

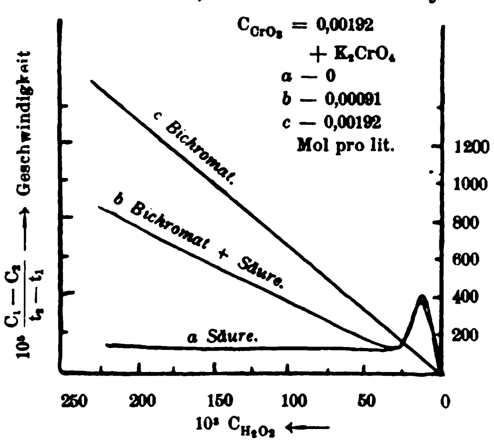
[1]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 53, 184, 1907.

Konzentration C von $K_2Cr_2O_7$ in Mol. pro l	Geschwindigkeitskonstante $0{,}4343\ k_{25} \cdot 10^4$	$\frac{0{,}4343\ k \cdot 10^4}{C}$
0,000030	4,5	15,0
0,000060	8,6	14,3
0,000120	17,2	14,3
0,000240	33,7	14,0
0,000480	65,3	13,6
0,000783	100	12,8
0,000960	123	12,8
0,001920	231	12,0
0,003840	394	10,3
0,004540	480	10,6
0,009080	829	9,1

Aus der ein ungeheures Konzentrationsgebiet (1 : 300) umfassenden Versuchstabelle ersehen wir, daß die Katalyse *innerhalb nicht zu großer* Konzentrationsintervalle in der Tat proportional der Dichromatkonzentration ist, wenn auch die Proportionalitätskonstante (letzte Spalte) *allmählich* mit steigender Dichromatkonzentration sinkt.

Zwischenreaktionen. Kompliziertere Zeitgesetze. Geschwindigkeitsmaxima.

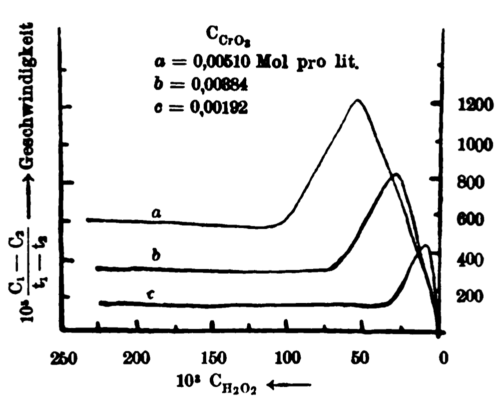
Auch hier handelt es sich offenbar um eine Katalyse mit *Zwischenreaktion*, da mit der Katalyse eine rotbraune Färbung der Reaktionsmischung *auftritt und verschwindet*, sich also offenbar jene Überchromsäure als Zwischenprodukt bildet, deren rotbraune Salze M_3CrO_8 Riesenfeld neulich in seinen schönen Arbeiten isoliert hat.



Aber *nicht immer* sind die *kinetischen Gesetze der Katalyse* so einfach, wie es aus den Katalysen erster oder zweiter Ordnung mit H-, OH′-, J′-, Cy′- und Cr_2O_7''-Ionen bisher erschien:

Gerade der letzte Fall bietet eine höchst interessante Anomalie, sobald man die *Dichromationen* in schwach *saurer* Lösung auf das H_2O_2 katalytisch einwirken läßt. Man erhält dann nach Spitalsky[1]) z. B. folgendes eigentümliche Bild:

Solange man reines Dichromat als Katalysator für den H_2O_2-Zerfall anwendet, ist die Geschwindigkeit der O_2-Gasentwicklung (Ordinate) streng proportional der jeweilig noch vorhandenen H_2O_2-Konzentration (gerade Linie c in Fig. S. 298), also die Reaktion einfach erster Ordnung. Setzt man dagegen das katalysierende Chrom nicht in Form von Dichromat, sondern in Form von reiner Chromsäure zu, so erhält man die eigentümliche Kurve *a*, längs welcher die Reaktion größtenteils beinahe „nullter" Ordnung ist, d. h. ihre Geschwindigkeit (dem Massengesetz scheinbar zum Hohn) in einem sehr großen Teile ihres Verlaufes nahezu unabhängig von der Konzentration des Substrates, d. h. des sich zersetzenden Stoffes, also des H_2O_2, dagegen annähernd proportional der Konzentration der katalysierenden Chromsäure ist. Ist aber die Konzentration des H_2O_2 während der Reaktion unter einen gewissen Betrag gesunken, *dann* beginnt die Reaktionsgeschwindigkeit *ziemlich rasch bis zu einem ausgeprägten Maximum zu steigen* und sinkt dann zum Schluß mit der Substratkonzentration (H_2O_2) sehr rasch ab. Das Maximum tritt um so eher ein und liegt um so höher (Fig. S. 299), je größer die Konzentration der freien, katalysierenden Chromsäure und damit die nahezu konstante Anfangsgeschwindigkeit ist.



Kurve *b* in Figur S. 298 zeigt den Übergang vom einen Typus in den andern.

[1]) Die Abhandlung erscheint demnächst in der Zeitschr. f. anorgan. Chem. 1907.

Unabhängigkeit der Geschwindigkeit von der Substratkonzentration als Analogie zu gewissen Fermentreaktionen.

Diese Tatsache, daß eine Reaktionsgeschwindigkeit unter gewissen Umständen, besonders bei einem großen Substratüberschuß, nahezu *unabhängig von der Konzentration des sich umwandelnden Substrates* und nur abhängig von der Katalysatorkonzentration erscheint und daher der *prozentische* Substratumsatz in gleichen Zeiten bei derselben Fermentmenge um so kleiner ist, je größer die anfängliche Substratkonzentration war, findet sich übrigens auf einem sehr interessanten Gebiete, der Fermentchemie, wieder.[1]) So bei der *Hydrolyse des Milchzuckers* durch relativ kleine Mengen von *Lactase* oder *Emulsin* nach Armstrong, des Rohrzuckers durch Invertin nach Duclaux u. a. Dies gilt aber *gerade wie in unserem* Falle nur, solange das Substrat in großem Überschuß im Verhältnis zum Katalysator vorhanden ist. Diese Erscheinungen wie auch die Geschwindigkeitsmaxima lassen sich übrigens *auch* durch Zwischenverbindungen und Stufenreaktionen[2]) zwischen Katalysator und Substrat erklären.

Änderung der Ordnung der Reaktionsgleichung durch den Katalysator.

Daß man *durch den Katalysator die Ordnung des Zeitgesetzes der Reaktion zuweilen zu ändern imstande ist*, hat bereits Brode[3]) bei einer andern Katalyse, die er auf meine Anregung hin kinetisch untersucht hat, gezeigt. Die bekannte und oft untersuchte (Magnanini, Noyes, Harcourt, Esson u. a.) Reaktion

$$H_2O_2 + 2\,HJ = 2\,H_2O + J_2$$

---

[1]) Vgl. Arrhenius, Immunochemie 38, 39. — Mouton, Annales de l'Inst. Pasteur **14**, 573, 1900. Vgl. O. Herzog, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 366, 1906. E. Abderhalden und L. Michaelis, ebenda **52**, 326, 1907. Die Behauptung Eulers (Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 147, 1907), daß hierin die Kinetik der anorganischen Katalysatoren sich von der enzymatischen unterscheide, ist also nicht richtig.

[2]) Über solche vgl. Ostwald, Lehrb. d. allgem. Chem. **2**, 2. — Mellor, l. c. — Wegscheider, Zeitschr. f. physikal. Chem. **35**, 513, 1900; **39**, 257, 1902. — Kaufler, Zeitschr. f. physikal. Chem. **55**, 502, 1906. — Abel, l. c. und Zeitschr. f. physikal. Chem. **56**, 558, 1906. — Rakowski, Zeitschr. f. physikal. Chem. **57**, 321, 1906. — Federlin **41**, 565, 1903. — Schilow **42**, 641, 1903. Ber. d. deutsch. chem. Ges. **36**, 2735, 1903. — E. Brunner, Zeitschr. f. physikal. Chem. **52**, 89, 1905. — A. Skrabal, Zeitschr. f. Elektrochem. **11**, 653, 1905. Monatsh. f. Chem. **27**, 503, 1906.

[3]) Brode, Zeitschr. f. physikal. Chem. **37**, 257, 1901.

wird ebenso wie durch Spuren von Eisensulfat (Schoenbein) und Kupfersulfat (M. Traube) auch *durch äußerst geringe Mengen* Molybdänsäure (1 milliontel Mol. Molybdänsäure im Liter wirkt schon mehr als verdoppelnd auf die Geschwindigkeit) katalysiert. Dabei wurde aber die Ordnung der Reaktion erheblich geändert, was *nur dadurch* erklärlich wurde, daß auch hier bei der Katalyse eine *Zwischenverbindung* aus H_2O_2 und Molybdänsäure, nämlich die gelbe Permolybdänsäure gebildet wird, die ihrerseits den Jodwasserstoff sehr rasch oxydiert.

Die *kinetischen Formeln* solcher chemischer Zeitphänomene, die *aus mehreren Stufen* oder *simultanen Reaktionen* bestehen, führen oft auf *sehr verwickelte Systeme von Differentialgleichungen*, und es wäre dringend zu wünschen, daß der Chemie bald aus dem mathematischen Lager ein neuer Riemann erstände, der uns möglichst *vielseitige* Arten derselben in brauchbarer Weise zu integrieren und aufzulösen lehrte.

Wir sehen also, daß auch die gewöhnlichen Katalysen des Chemikers bezüglich der eventuellen Komplikationen ihrer Zeitgesetze den Fermentreaktionen durchaus nicht nachstehen, sondern ihnen sehr ähneln.

Spezifität der Katalysatoren.

Man hat gelegentlich den Einwand gegen die *Analogie von Katalyse und Fermentwirkung* erhoben, daß die Fermente viel *spezifischer* in ihren Wirkungen seien als die gewöhnlichen Katalysatoren. Während z. B. H-Ion sowohl die Cellulose und die Stärke verzuckert, wie auch Eiweißkörper, Amygdalin und Salicin zerlegt, Rohrzucker und Milchzucker spaltet, wirkt Diastase nur auf Stärke, nicht auf die anderen genannten Körper, ist also nur *für die Stärkespaltung* ein spezifischer Katalysator. Bekannt ist ja auch, daß sogar strukturidentische und nur stereochemisch verschiedene Substrate wie die Methylglucoside oder die *Polypeptide*[1]) gegen *dasselbe Ferment oder Enzym ganz verschieden* beständig sind.

---

[1]) Vgl. E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **36**, 60. — Derselbe und Bergell, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **36**, 2592; **37**, 3103, 1904. — Warburg, ibid. **38**, 187, 1905. Abderhalden, Physiol. Chem. 262 u. 502 u. f.

Es ist jedoch festgestellt, daß *auch die gewöhnlichen Katalysatoren* durchaus nicht immer generell wirken. So werden zwar die gewöhnlichen Carbonsäureester durch *H-Ion* katalytisch verseift, *nicht* aber nach Wegscheider und Praetorius[1]) die Sulfonsäureester. Ebenso wird z. B. durch Wolframsäure die Oxydation des Jodwasserstoffs mit *Wasserstoffsuperoxyd* wohl enorm beschleunigt, nicht aber die Oxydation desselben mit *Persulfat.* Cyankalium katalysiert, wie wir wissen, die Benzoinbildung, hemmt dagegen die Platinkatalyse des Wasserstoffsuperoxyds. Spuren von Wasser beschleunigen die Verbrennung von Kohlenoxyd, sind aber für gewisse andere Reaktionen, wie wir sehen werden, enorme Verzögerungsmittel. Also auch hier finden wir *Spezifität* wieder, wenn auch natürlich nicht so äußerst feine, wie bei manchen Enzymen des Organismus.

Andererseits wirken auch gewisse Enzyme auf manchen engeren Gebieten generell, so zersetzt z. B. das Emulsin nicht nur Amygdalin, sondern auch andere Glykoside und besitzt das Pepsin nach Pawlow neben seinen hydrolysierenden zugleich auch Lab-Eigenschaften.

Ablenkung der Reaktionsbahn.

Die häufige Spezifität der Katalysatoren und Enzyme ermöglicht es, je nach ihrer Wahl die Reaktion *desselben Ausgangsmateriales* nach Belieben in verschiedene Bahnen zu lenken oder wenigstens die eine oder andere Reaktionsbahn *hauptsächlich* zu *bevorzugen.* So spaltet Benzoin nach Knoevenagel[2]) in Gegenwart von Palladium mehr Wasserstoff und Kohlenoxyd, in Gegenwart von Platin dagegen nur Wasserstoff ab. Nach Slator[3]) bildet Chlor mit Benzol in Gegenwart von Zinntetrachlorid in der Hauptsache Monochlorbenzol, in Gegenwart von Chlorjod aber daneben reichliche Mengen Hexahydrochlorbenzol.

Die Eiweißstoffe werden durch die verschiedenen Enzyme Pepsin, Trypsin, Erepsin verschieden weit und in verschiedener Richtung gespalten.

---

1) Wiener Akad. **113**, IIb, 941, 1904; Zeitschr. f. physikal. Chem. **41**, 52, 1902.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **36**, 2829, 1903; Zeitschr. f. physikal. Chem. **51**, 384.

3) Zeitschr. f. physikal. Chem. **45**, 513, 1903.

Das Lösungsmittel als Katalysator betrachtet.

Auch die Wirkung eines *Lösungsmittels* müssen wir als katalytisch auffassen, da die meisten Reaktionen nach einem alten Satze schneller in Lösung als im festen Zustande verlaufen. So wandelt sich nach Reicher der monokline Schwefel in Gegenwart des lösenden Terpentinöles viel rascher in den rhombischen um, nach Cohen wird die Umwandlung des grauen Zinns in metallisches und umgekehrt durch Zinnsalzlösung beschleunigt, das schwarze Schwefelquecksilber geht in Gegenwart von lösender Schwefelkaliumlösung rascher in den stabileren roten Zinnober über usw. *Wie enorm der Einfluß des Lösungsmittels auf die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion* unter sonst gleichen Umständen sein kann, geht z. B. aus der folgenden bekannten Tabelle Menschutkins[1]) für die Geschwindigkeit der Reaktion hervor:

$$(C_2H_5)_3N + JC_2H_5 = (C_2H_5)_4NJ$$

Hexan	0,00018
Benzol	0,00584
Brombenzol	0,027
Äther	0,00076
Alkohol	0,0366
Methylalkohol	0,0516
Benzylalkohol	0,133
Acetophenon	0,129

Obige Reaktion vermag also in Acetophenon als Lösungsmittel 740 mal schneller zu verlaufen als in Hexan.

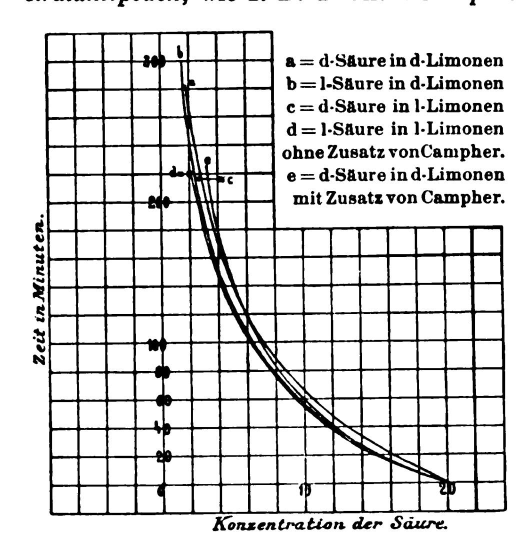
Optisch aktive Lösungsmittel für optisch aktive Reaktionskomponenten.

Um die Spezifität der Fermente auch bezüglich der stereochemischen Unterschiede nachzuahmen, habe ich übrigens mit Herrn Balcom[2]) untersucht, ob in einem optisch aktiven Lösungs-

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **6**, 41, 1890; siehe auch die schöne Arbeit von Nernst u. Hohmann, ebenda **11**, 352, 1893.

[2]) R. W. Balcom, Chemische Kinetik der CO_2-Abspaltung aus Camphocarbonsäure, Diss., Heidelberg 1905.

mittel als Katalysator, wie z. B. in *Limonen*, sich optische *Substratantipoden*, wie z. B. d- und l-*Camphocarbonsäure* verschieden schnell zersetzen (in unserm Beispiel zerfällt das Substrat in Campher und CO_2). Das Resultat ist (vgl. Figur) leider ein *negatives* gewesen, denn ein Unterschied in der Zersetzungsgeschwindigkeit der Antipoden im optisch aktiven Medium wurde hier bei 98° nicht gefunden. Jedoch soll uns dieses Resultat nicht entmutigen, weiter nach solchen stereochemisch-kinetischen spezifischen Unterschieden in anderen geeigneteren Fällen der Katalyse zu suchen.



Kalkstickstoffdüngerfabrikation.

In der vorher erwähnten Tatsache der *beschleunigenden Wirkung eines Lösungsmittels auf die Reaktionen fester Körper sieht* man übrigens *auch den Grund für eine interessante katalytische* Erscheinung, welche bei einem wichtigen technischen Verfahren, bei der *Bindung des atmosphärischen Stickstoffs durch Calciumcarbid,* also bei Herstellung von Cyanamidcalcium zu Düngerzwecken, in einem Patente von Polzeniusz eine wichtige Rolle spielt.

Während nämlich die Reaktion

$$CaC_2 + N_2 = CaN_2C + C$$

bei 800° C mit *gewöhnlichem* Carbid nur *äußerst träge* verläuft, geht sie *sehr rasch* bei Zusatz von 10% *Chlorcalcium* und gewissen anderen Salzen. Ich habe in Gemeinschaft mit W. Fraenkel und E. Wilke[1]) folgende *Reihenfolge* in der katalytischen Wirkung

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **13**, 69 u. 605. Siehe auch Foerster und Jacobi, ibid. **101**, 1907. E. Rudolphi, Zeitschr. f. anorgan. Chem. **54**, 170, 1907. Polzeniusz, Chem.-Ztg. **31**, 955, 1905.

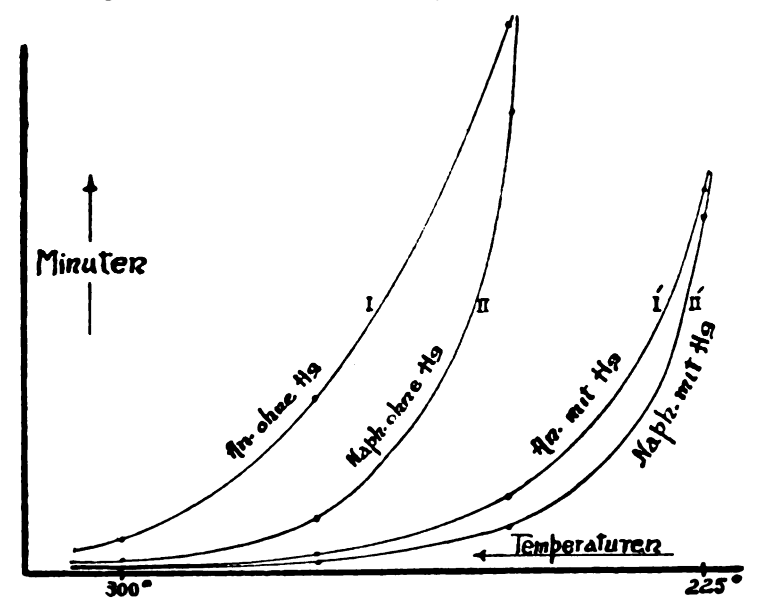
der *verschiedenen Chloride* unter sonst gleichen Umständen bei 800° beobachtet:

10% Zusatz von	$CaCl_2$	$SrCl_2$	$BaCl_2$	Theorie
N-Gehalt der Masse nach 2stündigem N_2-Einleiten	22,1%	16,5%	12,6%	24,5%
10% Zusatz von	LiCl	NaCl	KCl	ohne Zusatz
N-Gehalt der Masse nach 2stündigem N_2-Einleiten	19,1%	12,8%	11,1%	3,1%

Wie man sieht, steigt *in derselben Reihe des periodischen Systems hier die katalytische Wirkung mit fallendem Atomgewichte des Salzmetalles,* was wohl wenigstens zum Teil mit der *lösenden* Wirkung des Salzes auf den Stickstoff oder wahrscheinlicher auf das Carbid zusammenhängt. Die Geschwindigkeit der Reaktion erwies sich proportional dem Stickstoffdruck.

Katalyse bei höherer Temperatur.

Je höher übrigens die Temperatur gesteigert wird, um so überflüssiger wird meistens ein Katalysator, wie z. B. aus dem



folgenden Diagramm der von mir mit Herrn J. W. Brown[1]) untersuchten Oxydationsgeschwindigkeit von Anilin (I und I′)

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **46**, 502, 1903.

und von Naphthalin (II und II') (Phthalsäurefabrikation zur Indigosynthese) durch konzentrierte Schwefelsäure mit und ohne Gegenwart von Mercurisulfat hervorgeht (Ordinate: Zeit gleichen Umsatzes, Abszisse: Temperatur). Diese Katalyse mit Quecksilber- oder Kupfersalzen wird übrigens bekanntlich auch bei der von uns ebenfalls kinetisch untersuchten Kjeldahlanalyse täglich vielfach angewandt.

Einfluß geringer Verunreinigungen des Lösungsmittels.

Namentlich dem Synthetiker ist es eine bekannte Erscheinung, daß Reaktionen manchmal *durch Spuren von Verunreinigungen des Lösungsmittels* stark beeinflußt werden. Besonders spielt die *Verunreinigung des Lösungsmittels mit Wasserspuren* oft eine verhängnisvolle Rolle. *Zwei recht drastische* Beispiele dafür sind neuerdings in *absolutem Alkohol* und in *konzentrierter Schwefelsäure* quantitativ kinetisch untersucht worden.

Wasserspuren in konzentrierter Schwefelsäure.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß *Oxalsäure*, in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, zerfällt nach der Gleichung

$$(CO_2H)_2 = CO_2 + CO + H_2O.$$

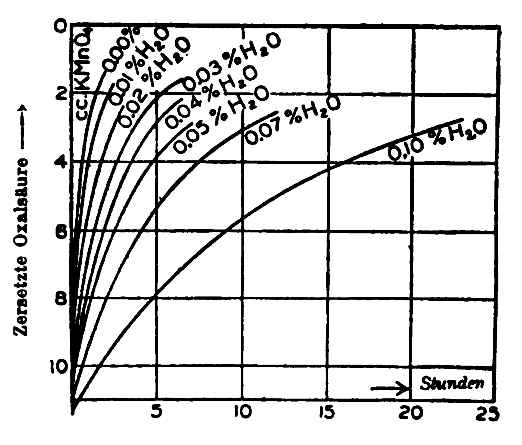
Von gewissen theoretischen Gesichtspunkten zur *kinetischen Ermittlung des Zustandes von Hydratschmelzen* wie H_2SO_4 ausgehend, habe ich nun die *Geschwindigkeit* obiger Reaktion in Gemeinschaft mit Herrn Lichty[1]) untersucht. Dabei stellte sich sehr bald heraus, daß die Geschwindigkeit derselben eine so *enorme Empfindlichkeit gegen spurenhaften Wassergehalt* der H_2SO_4 hatte, daß es sogar unmöglich war, mit Hilfe der *gewöhnlichen analytischen* Methoden den Wassergehalt der angewandten englischen Schwefelsäure genügend genau zu definieren. Wie umstehende Kurven (Ordinate: zersetzte Oxalsäure pro Liter in Permanganattitre, Abszisse: Reaktionsdauer bei 25°) zeigen, *verzögert bereits ein Zusatz von* 0,01% *Wasser die Reaktionsgeschwindigkeit der Oxalsäurezersetzung erheblich*, 0,1% *Wasserzusatz verzögert sie bereits um viele Stunden.*

---

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. **12**, 459, 1906; Journ. of physic. Chem. **11**, 225, 1907.

	Prozent Wasserzusatz	Zeit gleichen Umsatzes		Spez. Leitf. bei 25°
	0,000	15 Min.	25°	0,01043
Auf 100 g H_2SO_4	0,010	23		0,01068
	0,030	56		0,01122
	0,050	95		0,01210
	0,100	285		0,01560
	0,100	16 Min.	45°	0,01560
	0,200	52		0,02404
	0,400	237		0,03758
	0,600	543		0,04820
		Geschwindigkeitskonstanten erster Ordnung.		
	0,60	0,01814	70°	0,04772
	0,80	0,01022		0,05679
Auf 100 g Gemisch.	1,20	0,00492		0,07089
	1,50	0,00315		0,07929
	3,00	0,00094		0,10690
	3,00	0,02365	98°	0,1069
	6,00	0,00685		0,1293
	10,00	0,00222		0,1300
	20,00	0,00030		0,1390

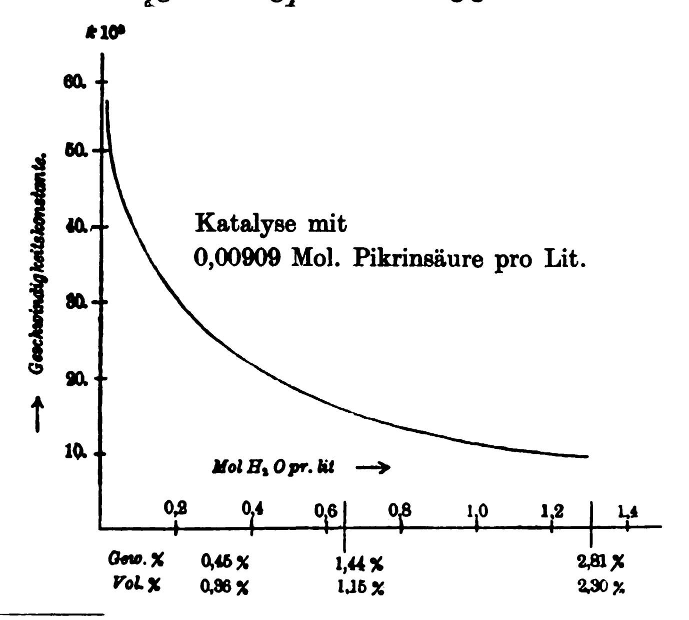
In der Tat erweist sich (siehe Tabelle) die *Reaktionsgeschwindigkeit* hier *als das empfindlichste Mittel zur quantitativen Bestimmung geringer Wasserspuren in konzentrierter Schwefelsäure,* mit dem allenfalls noch die auch *ziemlich*, aber nicht *so* stark empfindliche Bestimmung der *elektrischen Leitfähigkeit* konkurrieren kann. Im Minimum der elektrischen Leitfähigkeit (bei 100% H_2SO_4 nach Kohlrausch) ist hier übrigens kein Minimum oder Maximum der Reaktionsgeschwindigkeit zu bemerken.



Die Reaktion dürfte hier also schwerlich direkt von Ionen bestimmt werden, sondern vermutlich von dem *Hydratisierungszustande* der Schmelze, deren Komponenten SO_3 und H_2O sind. Innerhalb 0,1% und 10% Wasserzusatz ist übrigens die Geschwindigkeit *umgekehrt proportional dem Quadrate desselben*, so daß sie in diesem Intervalle cet. paribus ungefähr auf den 10000ten Teil herabsinkt. Es gibt vielleicht noch viele andere Reaktionen, bei denen ein geringer Wassergehalt der Schwefelsäure einen großen Einfluß hat. Bei der Beckmannschen *Umlagerung* hat übrigens Sluiter in Lobry de Bruyns Laboratorium auch einen solchen beobachtet (Recueil des trav. chim. d. Pays Bas **24**, 372, 1905).

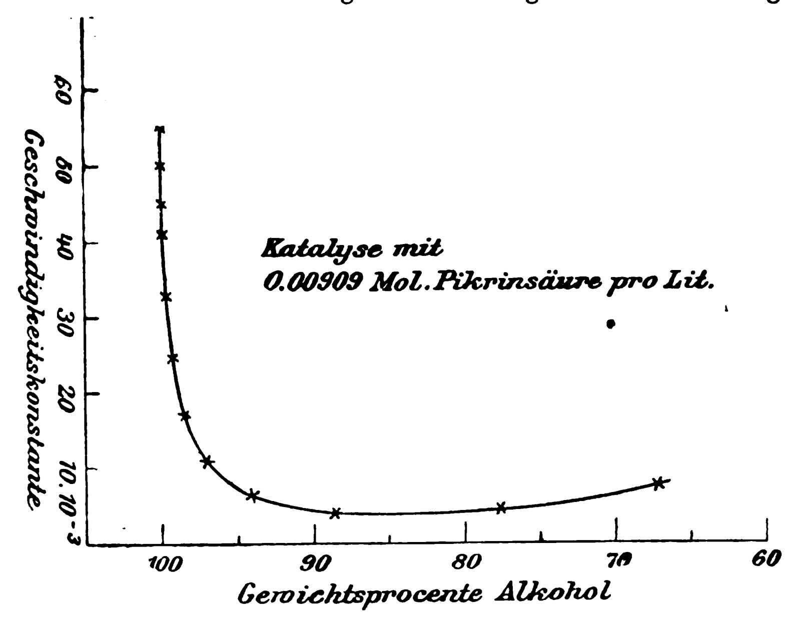
Wasserspuren im absoluten Alkohol.

Auch in einem *anderen* viel gebrauchten Lösungsmittel, dem *absoluten Alkohol*, ist neuerdings von H. Goldschmidt[1]) und E. Sunde und gleichzeitig und unabhängig von W. Fraenkel



[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 711, 1906; Zeitschr. f. Elektrochem. **12**, 432. Siehe auch Wegscheider und Kailan, Wiener Akad. **116**, IIb, 55, 1907; Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 1055, 1906; Liebigs Annal. **351**, 186, 1907. — Steger, Proefschrift Amsterdam, Substitutiesnelheid. 1898.

unter *meiner Leitung*[1]) ein verzögernder *Einfluß sehr geringer Wasserspuren auf die katalytische Wirkung starker Säuren* wie Salzsäure oder Pikrinsäure bei der *Esterbildung* und bei *der Reaktion zwischen Alkohol und Diazoessigester* entdeckt worden. Goldschmidt hat aus der verzögernden Wirkung auf die Esterbildung



noch 0,1—0,2% Wasser *durch Geschwindigkeitsmessung* ebenfalls mit einer Genauigkeit (z. B. Wasser 0,200% ber., 0,198% gef.) *bestimmen können, welche von keiner sonstigen analytischen Methode* (auch einer Dichtebestimmung nicht) *erreicht* wird. Auch für die katalytische Wirkungskonstante k von 0,009. normaler *Pikrinsäure auf Diazoessigester und absoluten Alkohol* fand Herr Millar[2]) in Heidelberg folgende Werte bei 25° mit *steigendem Wasserzusatz*:

Mol. H_2O i. Lit.	0.00	0.02	0,04	0,08	0,16	0,32	0,64	1,28	2,56	5,12
Vol. % Wasser	0,00	0,036	0,072	0,14	0,29	0,50	1,15	2,30	4,61	9,22
$k \cdot 10^3$	56	51	45	41	33	25	17	11	6,3	4,3

Durch etwa 1 pro mille *Wasserzusatz* sinkt also hier die katalytische Wirkung der Pikrinsäure in absolutem Alkohol um

---

1) Verhandl. d. naturhist. med. Vereins, N. F., **9**, 27, Heidelberg 1907.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. **39**, 1756, 1906. Zeitschr. f. physikal. Chem. **60**, 228, 1907.

ca. 20%, bis sie, wie unsere Figur S. 309 zeigt, bei ca. 11% Wasserzusatz durch ein sehr flaches Minimum geht.

Ionenhydrate.

Diese Einflüsse erklärt Goldschmidt vermutlich mit Recht dadurch, daß das Gleichgewicht zwischen dem H-Ionhydrat und dem H-Ionalkoholat der katalysierenden Säure mit steigender Wassermenge verschoben wird. Daher versprechen derartige kinetische Untersuchungen, besonders im Verein mit den Untersuchungen von Walden, Cohen, Carrara, Cady, Zelinsky, Dutoit u. a. über den Einfluß nicht wässeriger Medien auf den Ionisierungsgrad meines Erachtens interessante Aufschlüsse über die chemische Natur des Ionisierungsvorganges.

Schon früher haben übrigens Cohen, Steger, Walker u. a. den Einfluß von größeren Wasserzusätzen auf die *Zuckerinversion*, auf *die Harnstoffbildung*, auf die *Phenolätherbildung* usw. in alkoholischer Lösung kinetisch studiert.

Falsche Grenzen bei der Katalyse und Fermentwirkung.

Die Diazoessigestermethode gab noch zur Beobachtung einer andern interessanten Erscheinung Veranlassung, die ihr Analogon in der Fermentchemie hat. Tammann[1]) hat bekanntlich beobachtet, daß es Enzymwirkungen gibt, welche *nicht zu Ende* gehen, sondern wo die Reaktion schon vor der Vollendung stehen bleibt. In dem Maße aber, wie man neue Enzymmengen hinzugibt, kann man diese „falsche Grenze" weiter und weiter nach dem vollständigen, quantitativen Ende der Reaktion hin verschieben. Die Erscheinung dürfte auf einer parallel mit der katalytischen Wirkung verlaufenden Inaktivierung des Enzyms, eventuell durch das Substrat selbst, beruhen.

Ganz analoge Erscheinungen habe ich mit meinen Mitarbeitern nun auch *bei gewöhnlichen Katalysen* feststellen können. So geht nach Brode (l. c.) die katalytische Wirkung von Eisensalzen auf die Oxydation von HJ durch H_2O_2 in essigsaurer Lösung durch eine Nebenreaktion des Eisens und nach Stern (l. c.) ebenfalls

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 285, 1892. Vgl. Spiro u. Ashers Ergebn. d. Physiol. **1**, 191.

die katalysierende Wirkung von Cyankalium auf Benzaldehyd durch spontane Zersetzung des Cyankaliums unter gewissen Umständen allmählich zugrunde. *Besonders schön und quantitativ*[1]) ließ sich das bei der durch H-Ion katalysierten Reaktion des Diazoessigesters

$$N_2 : HC \cdot CO_2C_2H_5 + H_2O = HO \cdot H_2C \cdot CO_2C_2H_5 + N_2$$

in Gegenwart eines Gemisches von $^1/_{1000}$ *normaler Salpetersäure* und $^1/_{10}$ *normal NaCl* zeigen, *wobei die Katalyse stets nach kurzer Zeit bei einer „falschen Grenze" aufhörte und immer erst wieder in Gang kam, wenn man von neuem Säure hinzugab. Ohne* Gegenwart von *Salz* ging dagegen die obige Reaktion katalytisch mit $^1/_{1000}$ HNO_3 stets vollständig zu Ende, *dieser Katalysator wurde jedoch* in Gegenwart von Kochsalz *von dem Substrat*, dem Diazoessigester, *selbst gleichzeitig zu einer Nebenreaktion unter Bildung von Monochloressigester* (Curtius) gezwungen und verbraucht:

$$N_2 : HC \cdot CO_2C_2H_5 + H^{\cdot} + Cl' = ClH_2C \cdot CO_2C_2H_5 + N_2.$$

Eine solche Nebenreaktion muß nach modernen Grundsätzen durch jedes Salz, welches gleichviel Cl'-Ion enthält, in *gleicher* Weise in den Vordergrund gedrängt werden, wie ich an NaCl, NH_4Cl, $MgCl_2$, $CaCl_2$, $BaCl_2$, $MnCl_2$, $CoCl_2$, $NiCl_2$, $ZnCl_2$ in Gemeinschaft mit Herrn P. F. Ripley[2]) zeigen konnte. *Äquivalente Mengen dieser Salze wirken in der Tat quantitativ gleich bei obiger Anomalie,* $CdCl_2$ dagegen *erheblich weniger, ganz entsprechend der Ionentheorie. Ebenso* gelingt es auch, durch bloße Zugabe *ihrer eigenen Neutralsalze* die Wirkung der *Salpetersäure* und *Schwefelsäure* auf den Diazoester in eine solche „Nebenbahn" zu drängen, wobei ihre Anionen vermutlich mit dem Ester interessante neue Doppelester bilden.

„Falsche" Grenzen finden sich also wie bei der Enzymwirkung auch bei der *gewöhnlichen* Katalyse in quantitativ meßbarer Weise vor.

Schwellenwerte der Katalysatormenge in gewissen Fällen.

Eine *andere eigentümliche Nebenwirkung des Substrates auf einen Katalysator* besteht darin, daß die zugegebene Menge des

[1]) W. Fraenkel, l. c.

[2]) Verhandl. d. naturhist. med. Vereins, N. F., **9**, 42, Heidelberg 1907 und Ber. d. deutsch. chem. Ges. **40**, 1907.

letzteren erst einen bestimmten *Schwellenwert* erreicht haben muß, *bevor die Katalyse beginnt.* Dies beruht darauf, daß das Substrat die ersten Spuren des Katalysators zuerst zerstört. Solche Fälle habe ich in Gemeinschaft mit Koelichen, Mc. Intosh[1]) und Marck[2]) bei der *Katalyse des H_2O_2 durch kolloidales Silber* oder *Mangandioxyd* beobachtet. Hier werden die *ersten* Tropfen des zugegebenen Katalysators vollständig *entfärbt* und erweisen sich als *katalytisch unwirksam,* bis bei einem bestimmten Schwellenwert des Zusatzes endlich die Entfärbung ausbleibt und *die Katalyse heftig beginnt.* Die Erscheinung beruht darauf, daß das H_2O_2 *den Katalysator zu sehr unbeständigen, aber katalytisch viel weniger* (als das Kolloid) *wirksamen Wasserstoffsuperoxydsalzen* des Silbers und des Mangans zu lösen vermag, mit deren ausführlichem Studium ich noch beschäftigt bin.

Explosives Quecksilberperoxydat.

Hier sei auch das von Herrn A. v. Antropoff[3]) in Heidelberg bereits isolierte Wasserstoffsuperoxydsalz des Quecksilbers von der Formel HgO_2 erwähnt, welches aus HgO und H_2O_2 erhalten wird und einen tief rotbraunen, sehr explosiven und unbeständigen Niederschlag darstellt. Ich vermute, daß auch vom Platin und anderen Edelmetallen ein solches noch viel explosiveres Salz darstellbar sein wird und in der Katalyse eine Rolle spielt.

Katalyse im heterogenen System.

Zum Schlusse wenden wir uns zu der eigentlichen chemischen Kontaktwirkung, zu der Katalyse in *heterogenen* Systemen, also z. B. *an den Grenzflächen* fest-gas[4]) oder fest-flüssig, wie wir sie z. B. bei der *Vereinigung von Knallgas* oder der SO_3-*Synthese* oder der *Zersetzung von Wasserstoffsuperoxydlösungen* an Platin kennen. Diese Reaktionen erinnern in frappantester Weise an die Wirkungen der Enzyme, und es ist das Verdienst von Ber-

---

[1]) Journ. of physic. Chem. **6**, 15, 1902.

[2]) Katalyse des H_2O_2 durch kolloidales Mangandioxyd. Diss. Heidelberg 1907.

[3]) Zeitschr. f. Elektrochem. **12**, 585, 1906.

[4]) Für diese Systeme vergleiche besonders die bekannten Arbeiten von vant'Hoff, E. Cohen, M. Bodenstein, A. Stock u. A. Litteratur besonders in Zeitschr. f. physikal. Chem. **60**, 1 u. 46, 1907.

zelius und Schoenbein, zuerst auf diese Analogien durch Zusammenfassung unter den Begriff Katalyse hingewiesen zu haben.

Die Fruchtbarkeit dieses letzteren Begriffes konnte sich wissenschaftlich freilich erst dann entwickeln, nachdem Ostwald ihn als *Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit durch fremde Zusätze quantitativ und experimentell klar definiert* und, zum Teil im Verein mit Arrhenius, angewandt hat.

Zeitgesetz bei der Katalyse an makroheterogenen Grenzflächen.

Bei heterogenen Reaktionen im allgemeinen haben Nernst und Brunner[1]) zwei Fälle unterschieden: *Entweder* verläuft der chemische Vorgang *an der Grenzfläche* relativ *unendlich rasch* gegenüber der *Diffusion*, dann hängt die totale Geschwindigkeit des Vorganges im wesentlichen nur von der Geschwindigkeit ab, mit der die Stoffe durch Rühren und Diffusion zur Grenzfläche *herangeführt* werden, *oder* der Vorgang an der Grenzfläche oder in der festen Phase verläuft auch merklich langsam. Im letzteren Falle werden die Verhältnisse komplizierter, im ersteren Falle dagegen kann bei regelmäßiger Durchrührung des isotherm gehaltenen Systems das Zeitgesetz sich demjenigen der ersten Ordnung sehr gut nähern.[2]) In der Tat habe ich ein *solches Gesetz* mit den Herren Weinmayr und Teletow[3]) für die Zersetzung von H_2O_2-Lösungen an Platinblechen und Quecksilberoberflächen, sowie neuerdings mit Herrn Jablcyznski auch für die Wasserstoffgasentwicklung aus sauren Chromochlorürlösungen an Platinblechen festgestellt. Auch erwies sich der Temperaturkoeffizient dieser „makroheterogenen“ Katalyse an Blechen durchaus so gering, wie er sich bei Diffusionsphänomenen erwarten läßt.

---

1) Ebenda **47,** 52 u. 56, 1904; **51,** 494, 1905; **58,** 39, 1907.

2) Die Formel lautet:

$$\frac{1}{t} \ln \frac{C_1}{C_2} = k = \frac{FD}{\delta v}$$

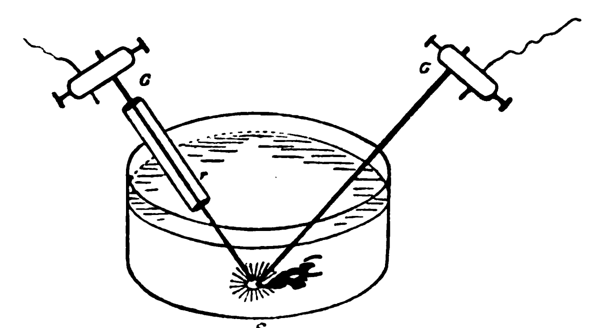
D Diffusionskoeffizient, F aktive Oberfläche, δ Schichtendicke, v Totalvolumen, C_1 Substratkonzentration am Anfang, C_2 dieselbe am Ende des Zeitintervalles t. W. Nernst und E. Brunner, Zeitschr. f. physikal. Chem. **47,** 52 u. 56, 1904.

3) Zeitschr. f. Elektrochem. **12,** 581, 1906; Diss. Weinmayr, 1903; Teletow, Heidelberg 1906.

Wir wissen schon seit Thénard, Berzelius und Schoenbein, daß *auch im Organismus*, im *Blut, in der Hefe, den Pflanzensäften* Stoffe vorhanden sind, *durch welche H_2O_2 geradeso katalytisch zerlegt wird wie durch Platin, Silber oder Gold.* Es ist auch gelungen, sowohl aus *Pflanzensäften* (Loew), wie aus *Hefe* (Issajew) oder *Blut* (Senter) *Enzyme*, die „Katalasen" oder „Hämasen", zu *isolieren*, welchen diese Eigenschaft zukommt. Es handelt sich hier um sehr instabile Stoffe, welche Kolloide oder doch mit solchen eng vergesellschaftet sind, nicht diffundierbar durch Cellulosewände, fällbar durch Elektrolyte wie Ammonsulfat usw. (Auf die *Eigenschaften der Kolloide* brauche ich wohl hier *nicht einzugehen.*)[1])

Herstellung von Metallkolloid durch elektrische Kathodenstäubung.

Wenn man die katalytische Wirkung der *Metalle* mit der der *Enzyme vergleichen* wollte, so mußte man also die Metalle *in den gleichen d. h. kolloiden Zustand* überführen, und dies ist mir unter Ausschluß aller sonst üblichen Verunreinigungen vor längerer Zeit mit Hilfe *der elektrischen Kathodenzerstäubung der Metalle im Lichtbogen unter Wasser* gelungen (vgl. Figur). Man erhält so kolloidale Metallsole, d. h. wässerige Metallsuspensionen, in welchen die Metallteilchen nur ultramikroskopische Größe besitzen. Ich habe von vornherein den Suspensionscharakter dieser Flüssigkeiten auf Grund ihrer Eigenschaften, auch ihrer optischen und des Tyndallphänomens, vertreten. Derselbe ist neuerdings von Siedentopf und Zsigmondy in ihrem prächtigen Ultramikroskop ad oculos demonstriert worden.



Elektrische Herstellung anorganischer Katalasen.

[1]) Vgl. H. Aron, Zusammenfass. Ref. Biochem. Centralbl. **3**, 461, 501; **4**, 505, 553 und besonders Handb. d. angew. physikal. Chem. **8**: A. Müller, Allgem. Chem. d. Kolloide, Leipzig 1907, sowie Zeitschr. f. Chem. u. Industr. d. Kolloide, herausgeg. v. R. Ditmar, jetzt v. Wolfgang Ostwald, 1906/07.

Anorganische Katalasen.

In Gemeinschaft mit Müller von Berneck, Ikeda und Reinders und später mit Fortner, Weinmayr, Teletow u. a.[1]) habe ich nun die katalaseartigen Wirkungen dieser Metallsole kinetisch gemessen und in frappanter Weise in Übereinstimmung mit denen der natürlichen Enzyme gefunden. G. Senter[2]) hat dies später durch eine schöne Untersuchung der Blutkatalase in allen wichtigen Punkten bestätigt. Zunächst ist, gerade so wie bei den Enzymen, die *enorm geringe Quantität* Katalysator zu betonen, welche *hinreicht*, um die millionenfache Menge Substrat, also hier H_2O_2, zu zersetzen.

So ist noch die Wirkung von 1 g-Atom Platin in 70 Millionen, 1 g-Atom Gold in 1 Million, 1 g-Atom Palladium in 26 Millionen Liter Reaktionsgemisch wahrnehmbar. Das nimmt uns aber nicht wunder, wenn wir bedenken, daß nach der Untersuchung von Weinmayr und mir ungefähr *molekulare Schichtdicken* des *Quecksilbermetalles* zur Katalyse eben hinreichen.

Bei den Enzymen bestehen, soviel man weiß, ganz ähnliche Größenverhältnisse zwischen Substrat-, Katalysator- und Lösungsmenge.

In konzentrierteren H_2O_2-Lösungen freilich läßt die Wirkung der Katalyseenzyme nach Senter, Faitelowitz, Loew, Vandevelde u. a. mehr oder weniger rasch nach, *indem das Enzym in einer Nebenreaktion vom H_2O_2 zerstört wird. Dasselbe* ist aber auch bei der anorganischen H_2O_2-Katalyse mit kolloidalem Silber nach Mc. Intosh der Fall. Zur Erklärung sei auf die bereits erwähnte (S. 312) Tatsache hingewiesen, **daß sich das Silber im H_2O_2 auflösen kann.**

Zeitgesetz der mikroheterogenen Katalyse.

Wenn man von gewissen Komplikationen absieht, besonders indem man nicht zu konzentrierte H_2O_2-Lösungen anwendet, dann erhält man bei der *Katalase* und bei dem *kolloidalen Platin*

---

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **31**, 258, 1899; **37**, 1, 323 u. 448, 1901; Ber. d. deutsch. chem. Ges. **37**, 798, 1904; Annal. d. Physik, Boltzmann-Bd. **1904**. 839, — Bredig, Anorganische Fermente, Habilitationsschrift, Leipzig 1901.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **44**, 257, 1903; **51**, 673, 1905.

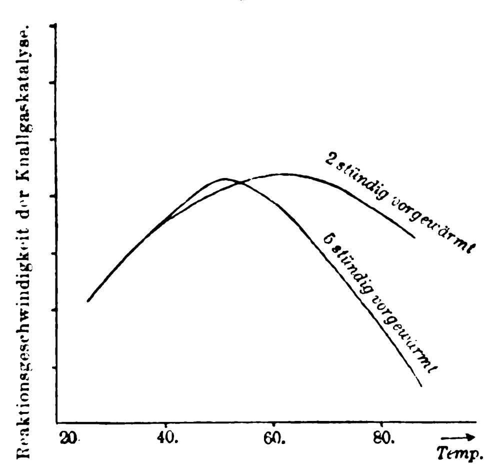
(vgl. Tabelle) annähernd eine Konstante k für ein Zeitgesetz erster Ordnung, wie man es auch bei dem fettspaltenden Enzym, der *Lipase* nach Nicloux, bei der *Alkoholgärung* nach Herzog und Euler, bei der *Emulsinwirkung* auf *Salicin* nach Tammann, bei der Wirkung von *Erepsin* auf *Polypeptid* nach Euler und

Blutkatalase (Senter l. c. 44, 281)			Platinkatalase (Bredig und von Berneck, l. c. 31, 288)		
Zeit	$C_{H_2O_2}$	0,4343 k	Zeit	$C_{H_2O_2}$	0,4343 k
0	39,7		0	47,4	
5	32,2	0,0175	10	37,9	0,0097
10	26,7	0,0163	20	30,0	0,0099
20	17,8	0,0176	30	23,6	0,0101
30	11,6	0,0185	40	18,2	0,0104
50	4,8	0,0191	60	11,0	0,0106

Abderhalden und in anderen Fällen findet. Es mag dahingestellt bleiben, ob, wie manche wollen, ein *Teil* der Fermente *nicht* als heterogener, sondern als *gelöster* homogener Katalysator, also etwa wie KJ oder Chromate auf H_2O_2, wirken; bei der Hämase, den Hefeversuchen und der Lipase von Nicloux scheint mir aber der „mikroheterogene" Zustand so wie bei meinen kolloidalen Metallösungen vorzuliegen.

Temperaturkoeffizient.

Erwähnt sei die von mir mit Teletow (l. c.) gefundene Tatsache, daß der Temperaturkoeffizient der Katalyse mit *kolloidalem* mikroheterogenen Platin erheblich höher ist als bei den makroheterogenen Systemen mit Platin*blechen*, was auf die zunehmend stärkere Durchrührung infolge der Eigenbewegung der Kolloidteilchen, deren Steigerung mit zunehmender Temperatur wir im Ultramikroskop deutlich wahrgenommen haben, zurückzuführen ist.



Auch bei Enzym*lösungen* (Invertin) fand Henri einen *größeren*

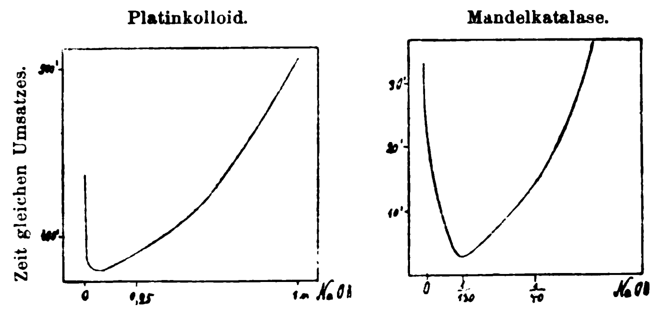
Temperaturkoeffizienten als bei demselben Enzym, wenn er es auf einer ruhenden Gelatine*fläche* analog unseren Blechen fixiert hatte.

Von den *Enzymen* wissen wir, daß sie bei hohen Temperaturen zerstört werden. Daher geht ihre Wirkung mit steigender Temperatur durch ein Maximum und hängt von der Dauer der Vorwärmung ab. Ähnliches fand Ernst[1]) für die Knallgaskatalyse durch kolloidale Platinlösung, wie durch Fig. S. 316 illustriert wird.

Die Aktivatoren als Analoga der Cofermente.

Besonders interessant dürfte auch *folgende Analogie* sein: Das kolloidale Gold, Silber, Palladium, MnO_2 usw. also gewisse „anorganische Fermente“ wirken *nur dann erheblich katalytisch* auf H_2O_2, *wenn man ihnen gewisse Mengen von Alkali zusetzt.* Auch die Wirkung von Platinkolloid wird durch Alkali gesteigert. Dieser Zusatz darf jedoch kein unbegrenzter sein, *denn die Wirkung dieses Aktivators, also hier des Alkalis, geht,* wie unsere Kurven lehren, *durch ein Maximum,* so daß durch *größere Zusätze von Natronlauge* die Katalyse im Gegenteil sogar *geschädigt* wird.

Ganz *analoge* Verhältnisse hat man nun auch bei den Fermenten gefunden, z. B. bei Mandelkatalase nach Jacobson



(s. Kurve). Ferner wird die Wirkung der Leberlipase nach R. Magnus[2]) erst durch das *Zusammenwirken* einer nicht diffundierbaren Substanz *und* eines diffundierbaren, kochbeständigen

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **37**, 477, 1901.

[2]) Literatur vgl. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 1907, 284 u. 303. — Jacoby, Immunität 1906, 87. — Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. 1906, 96. Siehe auch C. Neuberg mit E. Rosenberg, Berl. klin. Wochenschr. **1907**, Heft 2, mit K. Reicher, Münch. klin. Wochenschr. **1907**, Heft 35.

Aktivators, eines „*Cofermentes*", erzeugt, das hier also das *Analogon* zur *Natronlauge* bei der Goldkatalyse (Reinders) ist. Ebenso fand O. Cohnheim, daß die Zerstörung des Traubenzuckers im Organismus durch ein Muskelsaftferment bewirkt wird, das aber erst durch Zugabe von Pankreassaft aktiviert wird. Auch hier schadet, gerade wie ein Überschuß von Natronlauge bei Gold, ein Überschuß des Cofermentes.

Daß die Pepsinwirkung, die Lipasewirkung (Connstein und Hansen) und die Invertinwirkung durch Säuren unterstützt wird, ist bekannt. Auch die *günstige Säurewirkung* geht z. B. beim *Invertin* durch ein *Maximum* mit steigendem Säurezusatz.

Analoga der Zymogene.

Wir wissen durch die berühmten Untersuchungen von Pawlow u. a., daß die *Fermente im Organismus häufig nicht fertig gebildet*, sondern als *Vorstufen*, „*Zymogene*" oder „*Proenzyme*" vorkommen, aus denen erst durch Zubringen anderer Substanzen, der „*Kinasen*", die eigentlichen Fermente entstehen.[1]) Dies ist beim *Pepsin*, *Lab* u. a. festgestellt. Ganz analog konnte ich mit Weinmayr und Marck zeigen, daß man aus Quecksilberchlorid oder Permanganat, *die hier also die Rolle der Zymogene spielen*, mit Hilfe *von kolloidalem Gold* oder von *Alkali*, *die hier die Analoga zu den Kinasen sind*, *anorganische Katalasen* erzeugen kann.

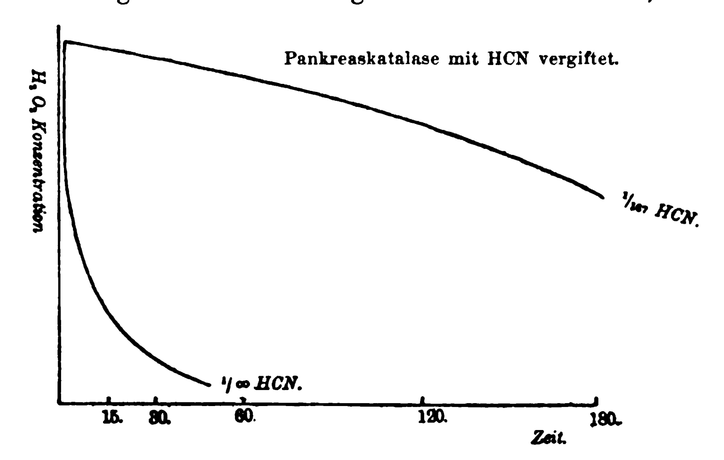
Katalysatorgifte als Analoga der Enzymgifte.

Aber nicht nur Stoffe, welche die katalytische Wirkung der Fermente *erhöhen*, gibt es, sondern auch solche, welche die Enzymwirkung *ganz enorm herabsetzen*, ja sogar aufheben. Man nennt diese Stoffe „*Enzymgifte*". Es sind das offenbar solche, welche auf das Enzym chemisch (durch Verbindung) oder mechanisch (durch Einhüllung und Bedeckung wirksamer Oberflächen) einwirken. So ist seit Schoenbein bekannt, daß die Wirkung der Katalase durch erstaunlich geringe Mengen Blausäure gelähmt wird (s. Kurve Pankreaskatalase S. 319), daß sie aber bei Entfernung der Blausäure („*Erholung*") wieder *auftritt*. Ähnliches hat

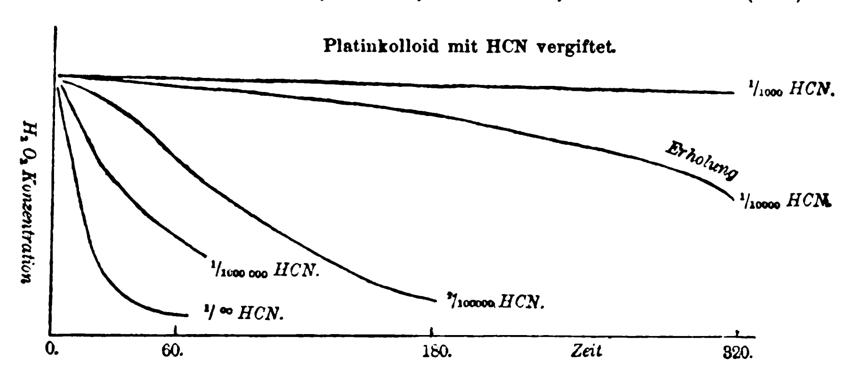
---

[1]) Literatur vgl. Hammarsten, Physiol. Chem. 1907, 16. — Abderhalden, Physiol. Chemie 224, 498, 531.

Buchner bei der Alkoholgärung durch *Zymase* beobachtet. Auch die Wirkung der Antifermente gehört vielleicht hierher.[1])



Ich konnte nun (im Anschluß an alte Beobachtungen von Faraday mit Platinblechen bei Knallgas) in Gemeinschaft mit Müller von Berneck, Ikeda, Reinders, Fortner u. a. (l. c.)

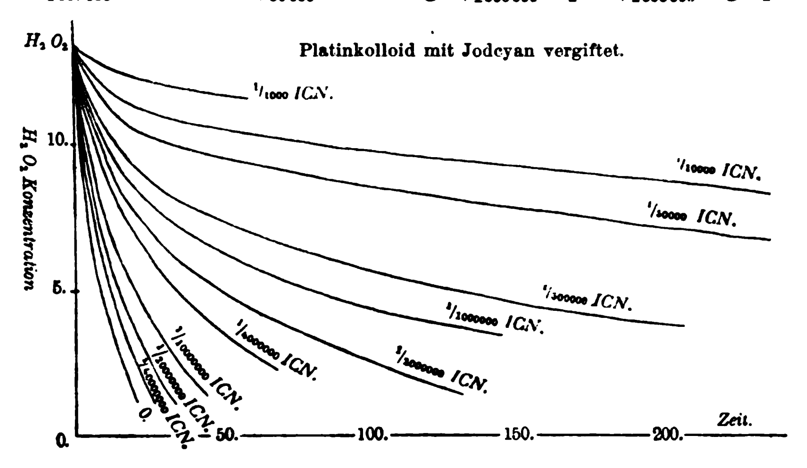


zeigen, daß ganz ähnliche Erscheinungen auch bei der Katalyse durch kolloidale Metalle auftreten, und daß auch hier diese „*Giftwirkungen*" oft durch erstaunlich geringe Mengen bewirkt werden. So wurde (vgl. Kurven) bei $^1/_{100000}$ atomaren *Platinlösungen* z. B. die Wirkung noch durch eine $^1/_{20000000}$ normale Blausäurelösung, $^1/_{13000000}$ Jodcyanlösung, $^1/_{7000000}$ molare Jodlösung, $^1/_{2500000}$ mo-

---

1) Vergl. besonders die schönen Arbeiten von M. Jacoby, bes. diese Zeitschr. **4, 474, 1907.**

lare Sublimatlösung auf die *Hälfte* vermindert.[1]) Senter hat später in einer sehr sorgfältigen Arbeit (l. c.) die *analogen Erscheinungen bei der Blutkatalase* studiert und fand dasselbe für $^1/_{1000000}$ Blausäure, $^1/_{50000}$ Jodlösung, $^1/_{1000000}$ H_2S, $^1/_{2000000}$ $HgCl_2$.



Specifität der Gifte.

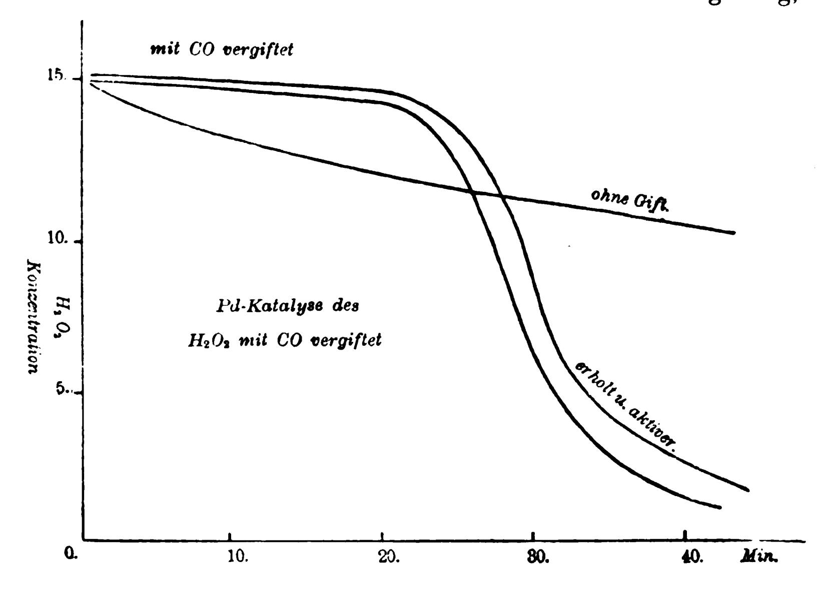
Natürlich soll damit nicht gesagt sein, daß es immer genau *dieselben* Stoffe sein müssen, welche auf anorganische und organische Fermente als „Gifte" oder „Antikatalysatoren" wirken. So ist z. B. CO in manchen Fällen ein intensives Platingift, aber *kein* Gift für die H_2O_2-Katalyse durch MnO_2 und für die organische Katalase. Hierin also tritt wieder die große „Spezifität" auch bei anorganischer Katalyse hervor.

Erholung von der Vergiftung.

Interessant ist auch die Tatsache, daß sich sowohl anorganische wie organische Fermente von *manchen* „Vergiftungen" (nicht von allen) „*erholen*" können. Dies haben Schoenbein, Buchner und Senter für die Blausäurevergiftung der Hefe- und Blutkatalase, ich mit v. Berneck, Ikeda, Fortner bei der

[1]) Hier müssen auch die interessanten Arbeiten von S. L. Bigelow, Zeitschr. f. physikal. Chem. 26, 493, 1898 und A. Titoff, ebenda 45, 641, 1903, M. Centnerszwer, ebenda 26, 1, 1898 erwähnt werden. Auch die interessanten Beobachtungen von F. Raschig, Chem.-Ztg. 31, 926, 1907, bei der Hydrazinsynthese gehören vielleicht zu diesen.

Blausäure- und Kohlenoxydvergiftung anorganischer Metallkatalasen bewiesen, wo nach einiger Zeit die Reaktionskurve des *vergifteten* Systemes *wieder die alte Steilheit* des unvergifteten Systemes, ja sogar oft noch eine größere (vgl. Kurve S. 321) erreicht. So ist z. B. *mit CO vergiftet gewesenes Pt- oder Pd-Kolloid nach der Erholung* meistens viel aktiver als vor der Vergiftung,



so daß sogar ein im Anfang *vergiftetes* Kolloid, das *zuerst* viel langsamer wirkt, nach *längerer* Zeit das *unvergiftete* in seiner Wirkung bei gleicher Startzeit überholen kann, wie unsere Figur zeigt.

Modelleigenschaft der „Anorganischen Fermente".

Ich brauche mich wohl nicht dagegen zu verwahren, als wolle ich hier irgend eine geheimnisvolle Identität zwischen den Metallen und den Enzymen aufstellen. Aber, wenn man sich auch vor Übertreibungen der allerdings überraschenden zahlreichen Analogien zu hüten hat, so muß man doch die kolloidale Metallsole (und wahrscheinlich auch Sole von MnO_2 usw.) in vielen Beziehungen wenigstens als anorganische Modelle der organischen Enzyme betrachten. Diese *Modelleigenschaften* erhalten die kolloidalen Metallösungen (und einige Superoxyde) hauptsächlich

wegen der folgenden Eigenschaften: 1. wegen ihrer *starken katalytischen Fähigkeiten*; 2. wegen ihres *kolloidalen, oft sehr labilen* Zustandes mit ungeheurer Oberflächenentwicklung, welcher oft *irreversible* Veränderungen erleiden kann; 3. wegen ihrer Fähigkeit, *gewisse Stoffe chemisch durch Komplexbildung usw. oder durch Adsorption* zu binden.

Ganz wird sich die Frage nach der *Wirkung der Enzyme* wohl erst lösen lassen, wenn *solche in wirklich reinem Zustande isoliert* werden können. Vermutlich aber dürfte die Fermentwirkung meistens ebenso durch eine Zwischenverbindung zwischen Enzym und Substrat sich erklären, wie ich das auch für die Wirkung des Platins auf Wasserstoffsuperoxyd usw. für wahrscheinlich halte. Die Ansicht, daß es sich hier um eine Platin*verbindung* handelt, ist *wahrscheinlicher* als die Annahme einer *Lösung* von Sauerstoffgas im Platin, denn ich habe mit Herrn E. B. Spear kürzlich durch kinetische Messungen unter Druck[1]) in einer *Bombe* festgestellt, daß die Aktivität des Platinkolloids durch starke *Erhöhung des Sauerstoffdruckes nicht wesentlich verändert wird.*

Pulsierende Katalyse.

Zum Schlusse möchte ich noch eine von Weinmayr und mir[2]) entdeckte, besonders interessante *Art der heterogenen Katalyse* vorführen, die ein *ganz eigentümliches* Zeitgesetz besitzt, nämlich ein *rhythmisch periodisches.* Reaktionen, bei welchen die Geschwindigkeit periodisch pulsiert, sind bei *Elektrolysen* und *ähnlichen Vorgängen* (*Eisenpassivierung*) schon lange bekannt (Fechner, Schoenbein, Herschel, Joule, Küster und Koelichen, Cohen u. a.). Der bekanntlich von Ostwald[3]) so schön studierte Fall, Auflösung *des Chroms in Säuren* mit regelmäßig pulsierender Geschwindigkeit, hat sich bisher leider als nicht mehr sicher reproduzierbar erwiesen. Der von *uns gefundene Fall von periodisch pulsierender Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds* durch

[1]) E. B. Spear, Katalytische Zersetzung des H_2O_2 unter verschiedenen Sauerstoffdrucken. Diss., Heidelberg 1907.

[2]) Verhandl. d. Naturhist. med. Vereins Heidelberg **7**, 405, 1904; Zeitschr. f. physikal. Chem. **42**, 601, 1903.

[3]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **35**, 33 und 204, 1900; E. Brauer, ebenda **38**, 441, 1901.

Quecksilberoberflächen ist aber ein *prächtiges, leicht reproduzierbares Phänomen.*

Nach der Methode, mit der die Physiologen die Zuckungen des ausgeschnittenen Herzens und anderer Muskeln registrieren, hat nun Herr E. Wilke[1]) (nach dem Vorbilde Ostwalds beim Chrom) auf meine Anregung die pulsierende Katalyse auf einer berußten, rotierenden Trommel mit einem Gadschen Manometerschreiber graphisch registriert. Von seinen a. a. O. gegebenen Kurven befinden sich einige Beispiele auf der hier beigegebenen *Tafel I*: *Ordinate* ist die als *Druck* von dem Manometer registrierte *Geschwindigkeit*, mit welcher das Sauerstoffgas katalytisch aus H_2O_2-Lösung an einer Quecksilberoberfläche entwickelt wird, *Abszisse* die *Zeit.* Die Zeitmarken liegen in Intervallen von 5″. Die Kurven erinnern stark an die Tonogramme und Pulskurven der Physiologen.

Beeinflussung des Pulses durch geringe Zusätze.

Gerade wie die Pulsationen *ausgeschnittener, überlebender Organe*, wie namentlich der amerikanische Physiologe J. Loeb und seine Schüler[2]) gezeigt haben, durch Spuren gewisser Zusätze, Säuren, Basen und Salze ganz enorm beeinflußt werden, so ist das *auch hier der* Fall. So können wir die *normalen katalytischen Pulsationen* (*erste* Zeile von Kurve VII und XII) und die Länge ihrer Perioden durch Zusatz *minimaler Spuren von Alkali* (selbst in Form des nur *sehr wenig* hydrolysierten und daher alkalischen Natriumacetats) *oder von Säure regulieren* und ihre *Form verändern.* Vgl. auf unserer Tafel die Kurven XII bei Zusatz von $NaNO_3$ und XII bei Zusatz von Ammoncitrat, XV bei Zusatz von Wasserglas. Auch Kolloide wirken sehr stark, so z. B. in Kurve XVII Agar-Agar.

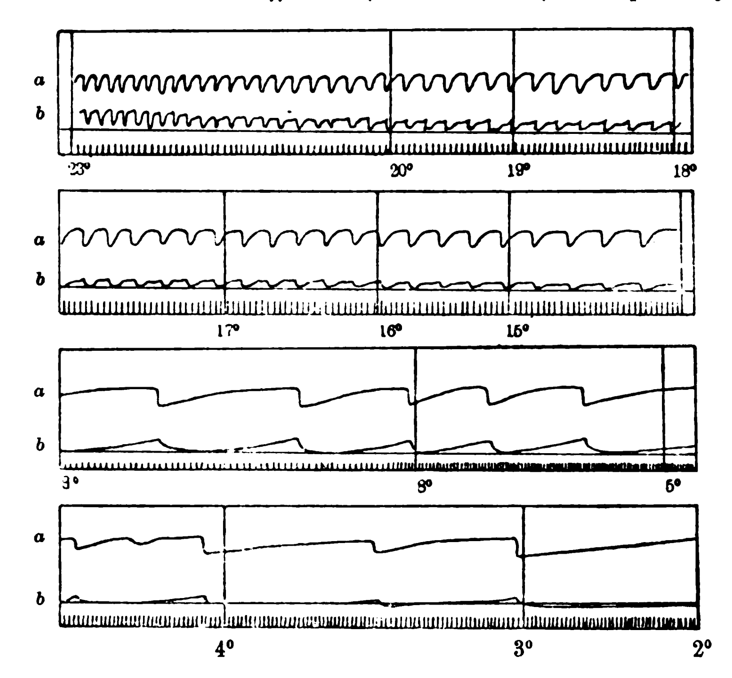
Zum Vergleich braucht man nur in einem medizinischen Journal oder Lehrbuch eine richtige Pulskurve zu betrachten. Auch einen katalytischen „pulsus intermittens" haben wir a. a, O. erhalten.

[1]) Verhandl. d. Naturhist. med. Vereins Heidelberg **8**, 165; Diss., Heidelberg 1904. Daselbst zahlreiche Diagramme und die ältere Literatur, die neuere bei Thiel und Windelschmidt, Zeitschr. f. Elektrochem. **13**, 317, 1907.

[2]) Vgl. Loeb, Vorlesungen über Dynamik der Lebenserscheinungen 117 u. f.

Elektrische Pulsation.

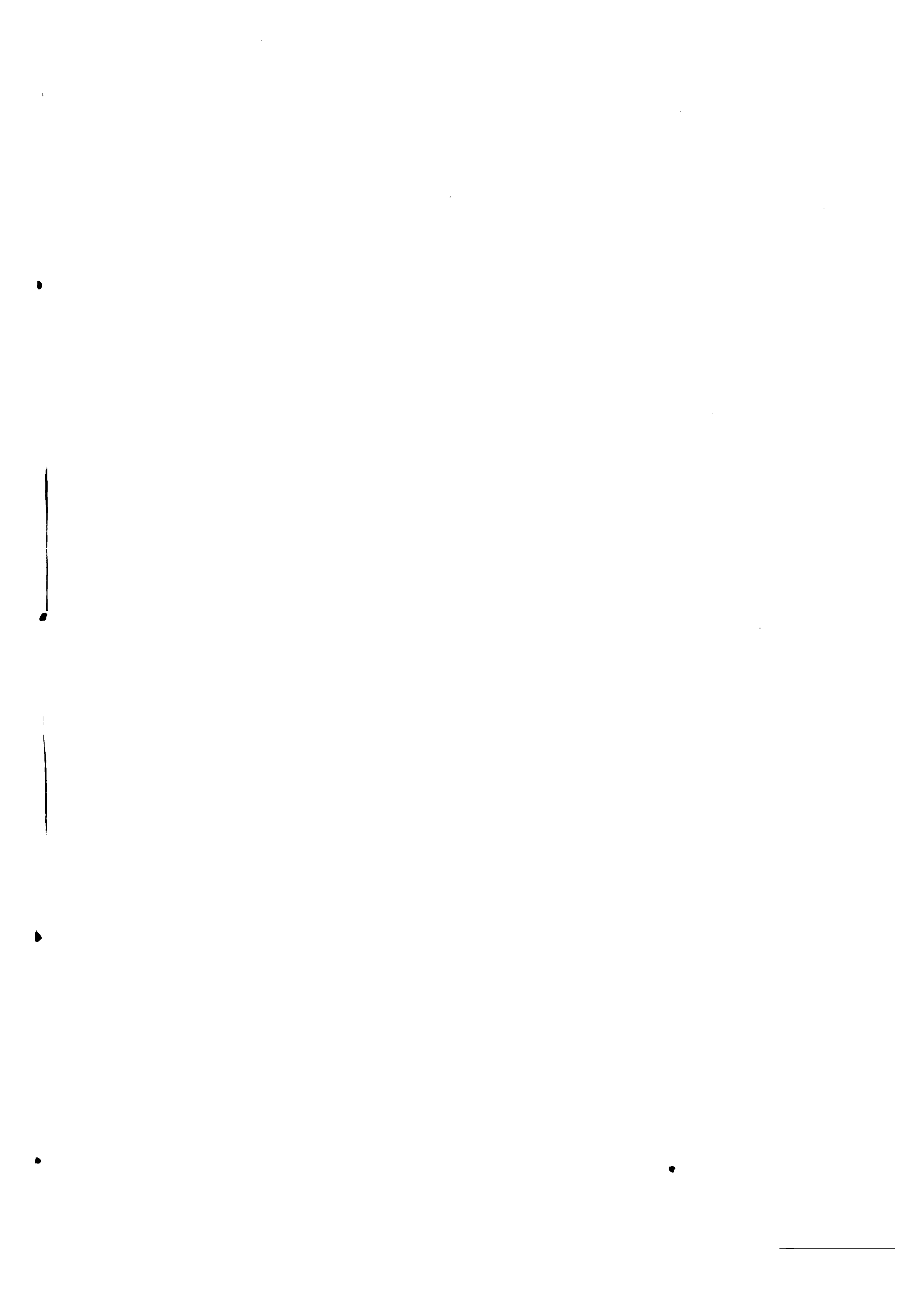
Es ist eine den *Physiologen bekannte Erscheinung*, daß das lebende Herz bei seinen Pulsationen auch *koinzidierende* Pulsationen seines *elektrischen* Zustandes zeigt (physiologische *Elektrokardiagramme*). *Gerade so* konnten wir (und vor uns schon Ostwald und Brauer l. c. bei den Chrompulsationen) bei der *pulsierenden Katalyse* zeigen, daß *mit dem rhythmischen Wechsel der Reaktionsgeschwindigkeit auch ein koinzidierender rhythmischer Wechsel der elektrischen Potentialdifferenz* (und der *Oberflächenspannung*)[1])



der katalysierenden Quecksilberoberfläche gegen die H_2O_2-Lösung verbunden ist, und Herr A. von Antropoff[2]) hat unter meiner

[1]) Vgl. hiermit die Betrachtungen von O. Bütschli, Protozoen; L. Rhumbler, Naturw. Rundschau 21, 365, 1906 und Beobachtungen von B. Danilewski, Arch. f. Anat. u. Physiol., Phys, Abt. 1905, 519; 1906, 413. Bei W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie 2, 730, ältere Literatur.

[2]) Vgl. die demnächst erscheinende Dissertation von v. Antropoff, Über Wasserstoffperoxydverbindungen des Quecksilbers und die pulsierende Quecksilber-Wasserstoffperoxydkatalyse, Heidelberg 1907. Daselbst zahlreiche interessante und mannigfaltige Diagramme und eine Theorie der Erscheinung.



Leitung neuerdings „katalytische Elektrodiagramme“ *a gleichzeitig* mit den *darunter befindlichen* „katalytischen Tonogrammen“ *b* auf einer rotierenden Trommel und mit Hilfe des von dem Leidener Physiologen Einthoven konstruierten, schönen *Saitengalvanometers photographisch* registriert. So stellt die Fig. S. 324 *normale* katalytische Pulsationen in Gegenwart von etwas Na-Acetat (zum Alkalischhalten) dar, die *obere* Kurve a *(Ordinate:* elektrische *Potentialdifferenz* der Lösung gegen das Quecksilber, *Abszisse: Zeit* in Intervallen von 2″) zeigt die *elektrischen* Pulsationen *in demselben Takte stattfindend* wie die *untere* Kurve *b* die *chemisch-katalytischen (Ordinate: als Druck registrierte Reaktionsgeschwindigkeit* der katalytischen Sauerstoffgasentwicklung aus dem H_2O_2 an der Hg-Oberfläche, *Abszisse: Zeit,* ebenfalls in Intervallen von 2″).

Wir haben auch gleichzeitige katalytische Tonogramme und Elektrodiagramme aufnehmen können, wenn man *spurenhaft mit Essigsäure ansäuert,* und *Diagramme,* indem der *katalytische Puls allmählich* durch zuviel Essigsäure oder Alkali überreizt zugrunde geht. Auch Beeinflussung des Pulses durch äußere elektrische Kräfte wurde beobachtet. Es dürfte dem Biologen nicht schwer fallen, hierfür bei lebenden Pulsationen Analoga zu finden. Tatsächlich haben auch neuerdings die niederländischen Physiologen Zwaardemaker und P. Wolterson[1]) die Pulsationen des Herzens ebenfalls vom Standpunkte der chemischen Katalyse aus zu betrachten begonnen. Ein Chemismus, bei dem auch Sauerstoff beteiligt erscheint, dürfte denselben ja ziemlich sicher zugrunde liegen.

Einfluß der Temperatur auf die Pulsperiode.

Aber noch mehr: Es ist bekannt, daß die *Periodenzahl der Pulsationen*[2]) von Vakuolen in lebenden Infusorien sowie von *ausgeschnittenen überlebenden Schildkrötenherzen usw. mit der Temperatur erheblich zu und abnimmt,* was vermutlich mit der Reaktionsgeschwindigkeit der im Leben tätigen Enzyme zusam-

---

[1]) P. Wolterson, Quant. Betrekking t. Vagusprikkeling en Hartswerking. Proefschrift, Utrecht 1907. Vgl. auch Richet, Dict. de physiol. **4**, 316. Hofmann in Nagel's Handb. d. Physiol. **1**, **1**, 244.

[2]) Vgl. Literatur bei E. Cohen, Vorlesungen l. c. S. 37. — J. Loeb, Vorlesungen S. 159 und Kanitz, Biol. Centralbl. **27**, **11**, 1907.

menhängt. In dem obigen Diagramme des Herrn v. Antropoff sehen Sie ebenfalls denselben Einfluß einer Temperaturerniedrigung auf die pulsierende Katalyse[1]), der mit steigender Temperatur auch umkehrbar ist, bis bei zu hoher Temperatur unser „katalytisches Herz" ähnlich wie ein *lebendes* zu flimmern beginnt und schließlich sich erschöpft.

Schluß.

Damit sind wir am Ende der Expedition angelangt, die ich mit meinen Arbeitsgenossen in den dunklen Erdteil der Katalyse unternommen habe. Ich bin mir wohl bewußt, daß *vor mir* viel großartigere und erfolgreichere Forschungsreisen in dieses Land von einem Kirchhoff, Davy, Thénard, M. Traube, Schoenbein, Mitscherlich, einem Ostwald, einem Arrhenius u. a. ausgeführt worden sind, und daß ich manche Wegstrecke zum Teil nur in ihren Fußtapfen, auf die ich gelegentlich hingewiesen habe, gewandert bin. Aber vielleicht haben Sie aus meinem Vortrage die Überzeugung gewonnen, daß (trotz des zum Teil durchaus berechtigten *Vitalismus* bedeutender Biologen) die Brücke zwischen der anorganischen und der biologischen Welt, wenigstens im chemischen Teile der letzteren, nicht durch einen *absoluten* Abgrund gespalten ist. Nicht nur aus der Synthese organischer Körper, sondern auch aus der physikalisch-chemischen Dynamik winkt uns die Hoffnung zu einem besseren Verständnis mancher, wenn auch nicht aller Lebenserscheinungen.

---

[1]) Das gleiche hatte Ostwald bei der schon erwähnten Chromreaktion gefunden.

Über gewisse chemische Komplementsubstanzen.

Von

Hideyo Noguchi.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, N. Y.)

(Eingegangen am 7. August 1907.)

Die Frage der natürlichen und erworbenen Immunität eines vielzelligen Organismus gegen fremde Zellelemente, besonders gegen Bakterien und Blutkörperchen, hat während der letzten 20 Jahre den Gegenstand sehr sorgfältiger Untersuchungen gebildet. Während viele wichtige Tatsachen und außerordentlich geistreiche Theorien über die Art der defensiven Anpassung und über die Natur der Schutzkörper veröffentlicht worden sind, ist nichts Entscheidendes über die Chemie der sogenannten Immunitätsreaktionen bekannt geworden. Bevor ich die Resultate meiner eigenen Experimente und die darauf sich aufbauende Ansicht über die Natur von Alexin oder Komplement äußere, möchte ich eine kurze Übersicht über gewisse grundlegende Tatsachen und einige Theorien, die diesen Gegenstand beherrscht haben und noch beherrschen, geben.

Metschnikoffs Ansicht, daß Phagocytose das hauptsächlichste Schutzmittel des Organismus gegen das Eindringen von Bakterien sei, erhielt eine starke Erschütterung durch die bemerkenswerte Entdeckung der bakterientötenden Eigenschaft des zellenfreien Blutserums durch Nuttall.[1]) Dieser Befund wurde bald von Nissen[2]),

[1]) Nuttall, Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. Zeitschr. f. Hygiene 4, 353, 1888.

[2]) Nissen, Zur Kenntnis der Bakterien vernichtenden Eigenschaft des Blutes. Zeitschr. f. Hygiene 4, 487, 1889.

Behring[1]), Behring und Nissen[2]), Fodor[3]), Buchner[4-5]) und anderen bestätigt.

Der Grund der bactericiden Fähigkeit wurde von Buchner[6]) einem aktiven (lebenden) Eiweiß zugeschrieben, wobei gewisse alkalische Salze eine wichtige Rolle spielten. Hankin[7]) meinte, daß sie von dem Vorhandensein gewisser, besonders aktiver Proteine im Serum herrühre. Fodor[8]), Behring[9]), Nissen[10]), Löwit[11]) und Pane[12]) schrieben die antibakterielle Eigenschaft der Alkalinität des Blutes zu. Das Verschwinden dieser Eigenschaft bei Hitze von 56° C führte zur Aufstellung der Kohlensäuretheorie von Christmas[13]); Hamburger[14]) war ähnlicher Meinung und glaubte, daß CO_2 eine diffusible Alkaliverbindung aus Alkali-Albuminat bilde, dementsprechend die bactericide Fähigkeit des Venenblutes stärker als die des Arterienblutes war.

---

[1]) Behring, Über die Ursache der Immunität von Ratten gegen Milzbrand. Centralbl. f. klin. Med. 9, 681, 1888.

[2]) Behring und Nissen, Über bakterienfeindliche Eigenschaft verschiedener Blutarten. Zeitschr. f. Hygiene 8, 412, 1890.

[3]) Fodor, Die Fähigkeit des Blutes, Bakterien zu vernichten. Deutsche med. Wochenschr. 13, 745, 1887.

[4]) Buchner, Über die bakterientötende Wirkung des zellfreien Blutserums. Centralbl. f. Bakt. 5, 817, 1889.

[5]) Derselbe, Über die nähere Natur der bakterientötenden Substanz im Blutserum. Centralbl. f. Bakt. 6, 561, 1889.

[6]) Derselbe, Zur Lehre von natürlicher Immunität. Münch. med. Wochenschr. 29, 1419, 1899.

[7]) Hankin, Über die schützenden Eiweißkörper der Ratte. Centralbl. f. Bakt. 9, 336, 1891.

[8]) Fodor, Neuere Untersuchungen über die bakterientötende Wirkung des Blutes und ihrer Immunisation. Centralbl. f. Bakt. 7, 753, 1890.

[9]) Behring, Beiträge zur Ätiologie des Milzbrandes. Zeitschr. f. Hygiene 6, 117, 1889.

[10]) Nissen, Zur Kenntnis der Bakterien vernichtenden Eigenschaft des Blutes. Zeitschr. f. Hygiene 6, 487, 1889.

[11]) Löwit, Über die Beziehungen der Leukocyten zur bactericiden Wirkung und zur alkalischen Reaktion des Blutes und der Lymph. Zieglers Beiträge 22, 172, 1897.

[12]) Pane, Ricerche sulla sostanze battericide del siero di sangue. Revista clinica e terapeutica 14, 705, 1892.

[13]) de Christmas, Etude sur les substances microbicides. Annales de l'Inst. Pasteur 5, 487, 1891.

[14]) Hamburger, Über den heilsamen Einfluß von venöser Stauung und Entzündung im Kampfe des Organismus gegen Mikroben. Centralbl. f. Bakt. 20, 403, 1896.

Die Experimente von Emmerich und Tsuboi[1]) stehen vollständig im Widerspruch zu obiger Theorie. Diese Forscher fügten ein Quantum Natronhydrat hinzu, genügend, um die ganze Kohlensäure des Hundeserums zu binden, und dialysierten dann bis zum vollständigen Verschwinden des freien Alkalis. Die bactericide Kraft des dialysierten Serums war größer als die des ursprünglichen. Die Erhitzung auf 55° brachte keine Inaktivierung hervor. Dieses Phänomen wurde folgendermaßen erklärt: CO_2 setzt die Aktivität des bactericiden Proteins herab, da es die aktiveren Alkalialbuminate spaltet und sie fast inaktiv macht. Die Inaktivierung des frischen aktiven Serums bei 55° C ist dem Freiwerden von CO_2 aus Bicarbonaten und einer nachfolgenden Spaltung der Albuminate zuzuschreiben. Somit konnte in den oben angeführten Experimenten keine Inaktivierung stattfinden, da in dem Serum nach Hinzufügen von NaOH weder Bicarbonate noch Kohlensäure vorhanden waren. A. Fischer[2]) suchte die Ursache der Bakterienvernichtung in rein physikalischen Bedingungen, wie in osmotischer Zerstörung, während Baumgarten[3]) sie für ein Hungerphänomen verbunden mit Fischers plasmolytischen Veränderungen hielt. Finckh[4]) fand, daß das Hinzufügen von Nährsubstanzen, wie Pepton und Zucker, und gewisser Magnesiumsalze zum Serum die bactericide Kraft beseitigte. Obgleich solche Versuche zur gleichen Zeit von Baumgarten zur Stütze seiner Ansicht angestellt wurden, so führten doch spätere Untersuchungen zu einer vollständig anderen Erklärung. Man wies nach, daß Pepton antikomplementär wirkt, sowohl in vivo als in vitro, während Magnesiumsalze die Wirkung der Komplemente sehr stark beeinträchtigen. Nolf[5]) wider-

---

[1]) Emmerich und Tsuboi, Über die Erhöhung und Regenerierung der mikrobiciden Wirkung des Blutserums. Centralbl. für Bakt. **13**, 575, 1893.

[2]) A. Fischer, Die Empfindlichkeit der Bakterienzellen und das bactericide Serum. Zeitschr. f. Hygiene **35**, 1, 1900.

[3]) Baumgarten, Zur Lehre von den natürlichen Schutzmitteln des Organismus gegenüber Infektion. Berl. klin. Wochenschr. **37**, 136, 162, 192, 1900.

[4]) Finckh, Aufhebung der sog. bactericiden Wirkung des Blutserums durch Zusatz von Nährstoffen. Centralbl. f. Bakt. 28, 694, 1900.

[5]) Nolf, Le mécanisme de la globulyse. Annales de l'Inst. Pasteur 14, 656, 1900.

sprach Buchners Ansicht von der proteolytischen Fermentnatur des Alexins und hielt es für ein einfaches hydratisierendes Agens und nicht für ein Enzym. Gleichzeitig bemühten sich Metschnikoff und seine Schüler [1-2]) Beweise dafür zu finden, daß Alexin ein Produkt zerfallener Leukocyten sei und daher im zirkulierenden Blutplasma nicht vorkomme. Buchner glaubte hingegen, daß Alexin ein physiologisches Produkt der Leukocyten und ein normaler Bestandteil des Plasmas wäre. Lambotte, Falloise [3]), Lambotte und Stiénon [4]) befürworteten die Präexistenz des Alexins im Blute, und diese Ansicht wurde durch die Experimente von Gruber und Futaki [5]) unterstützt. Die letzten Forscher schreiben — während sie die Absonderung bactericider Substanzen seitens gewisser Leukocyten zugeben — den Ursprung der bactericiden Kraft des klaren Blutserums den Blutkörperchen zu.

Man hat lange behauptet, daß Leukocyten die Quelle von Alexin wären. Diese Ansicht geht auf Metschnikoff's Phagocytoselehre zurück und wurde von vielen Forschern, besonders von Buchner, Schattenfroh und Bail, angenommen. Schattenfroh [6-7]) erzielte einen ziemlich starken bactericiden wässerigen Auszug aus den Leukocyten eines Aleuronatexsudats durch Frierenlassen und Wiederauftauen. Das Extrakt zeigte eine größere Hitzebeständigkeit [8]) als Alexin. Mononucleäre Zellen

---

1) Gengou, Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine des serums normeaux. Annales de l'Inst. Pasteur **15**, 68, 232, 1901.

2) Relms, Sur le mode d'action des cytolysines in vivo. Compt. rend. de la Soc. de Biol. **56**, **609**, **1904**.

3) Falloise, Sur l'existence de l'alexine hémolytique dans le plasma sanguin. Bull. Acad. roy. Belgique **1903**, 521.

4) Lambotte und Stiénon, Alexine et Leucocytes. Centralbl. f. Bakt. **40**, 224, 393, 503, 1905.

5) Gruber und Futaki, Über die Resistenz und über die Herkunft der milzbrandfeindlichen Stoffe. Münch. med. Wochenschr. **54**, 251, 1907.

6) Schaffenfroh, Über das Vorhandensein von bactericiden Stoffen in Leukocyten und deren Extraktion. Münch. med. Wochenschr. **44**, 4, 114, 1897.

7) Derselbe, Arch. f. Hygiene **31**, **1**, 1897.

8) Derselbe, Neuere Erfahrungen über den bakterienfeindlichen Stoff der Leukocyten. Münch. med. Wochenschr. **45**, **353**, **1898**.

enthielten die zerstörende Substanz nicht[1]). Bail bestätigte in einer Reihe von Experimenten[2-4]) Schattenfrohs Entdeckung. Schattenfroh[5]) wies nach, daß ein Leukocytenextrakt bactericid sein kann, ohne hämolytisch zu sein. Beide Autoren fanden Nucleohiston nicht bakteriolytisch. Außer dieser Tatsache, daß der Leukocytenauszug bactericide Substanzen enthält, ist nichts über die chemische Natur dieser Körper und ihre Beziehung zu bactericidem Serum bekannt. Pirenne[6]) unterschied zwei bactericide Substanzen im Rattenserum. Die eine ist als bei 0° C aktiv beschrieben und ist in höherem Grade wärmebeständig. Die andere ist bei 0° C inaktiv und erzeugt in einem mit diesem Serum behandelten Organismus einen Antikörper. Ihre Thermolabilität ist dieselbe wie die von Alexin im allgemeinen.

Eine neue Förderung erfuhr das Studium dieses Gebietes durch Pfeiffers Entdeckung der zusammengesetzten (dualen) Natur des Immunserums. Er fand zuerst[7-10]), daß das Immunserum, wenn es einmal seine Aktivität, sei es durch Erhitzung auf 55° C oder durch langes Stehen verloren hat, wieder aktiv wird, wenn es in den Tierkörper eingeführt wird; ein inaktives normales Ziegenserum kann auf diese Weise reaktiviert werden. Diese Entdeckungen bewirkten, daß von Buchners Alexin zwei

---

[1]) Schattenfroh, Über hitzebeständige bactericide Leukocytenstoffe. Münch. med. Wochenschr. **45**, 1109, 1898.

[2]) Bail, Über das Freiwerden der bactericiden Leukocytenstoffe. Berl. klin. Wochenschr. **34**, 887, 1897.

[3]) Derselbe, Schutzstoffe gegen Staphylokokkeninfektion. Berl. klin. Wochenschr. **35**, 921, 1898.

[4]) Derselbe, Über Inaktiviertheit leukocytenreicher Exsudate. Berl. klin. Wochenschr. **35**, 481, 1898.

[5]) Schattenfroh, Weitere Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Stoffe der Leukocyten. Arch. f. Hygiene **35**, 133, 1899.

[6]) Pirenne, Sur les alexines et les substances microbicides du serum normal. Centralbl. f. Bakt. **36**, 256, 1904.

[7]) Pfeiffer und Wassermann, Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität. Zeitschr. f. Hygiene **14**, 46, 1893.

[8]) Pfeiffer und Isaeff, Über die spezifische Bedeutung der Choleraimmunität. Zeitschr. f. Hygiene **17**, 355, 1894.

[9]) Pfeiffer, Weitere Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über spezifische bactericide Prozesse. Zeitschr. f. Hygiene **18**, 1, 1894.

[10]) Derselbe, Differentialdiagnose der Vibrionen der Cholera asiatica mit Hilfe der Immunisierung. Zeitschr. f. Hygiene **19**, 85, 1895.

deutlich verschiedene Bestandteile unterschieden wurden. Metschnikoff[1]) und Bordet[2]) beobachteten den Eintritt desselben Phänomens in vitro. Bordet[3-5]) klärte beim Arbeiten mit hämolytischem Serum den Mechanismus der Zellenauflösung auf und fand, daß bei der Hämolyse zwei Prinzipien in Betracht kommen. Das eine ist ein Immunisierungsprodukt und besitzt größere Wärmebeständigkeit; seine Wirkung besteht darin, die Blutkörperchen spezifisch zu sensibilisieren und für die auflösende Wirkung des normal im Serum vorhandenen Alexins empfänglich zu machen. Das andere — von Bordet Alexin benannt — übt seine lösende Wirkung auf die Blutkörper aus, wenn letztere spezifisch sensibilisiert sind, aber nicht auf die nicht behandelten Zellen und verschwindet bei 55° C oder spontan, wenn es einige Tage bei Zimmertemperatur steht. Bordet wies nach, daß ein durch Erwärmung auf 55° C oder durch Alter inaktiviertes Serum wieder aktiv gemacht werden kann, wenn man im normalen Serum vorhandenes Alexin hinzufügt. Diese wichtige Entdeckung wurde von Ehrlich und Morgenroth[6]) bestätigt und weiter ausgeführt, die ihre Resultate fast gleichzeitig veröffentlichten. Sie gaben an, daß die Art der Wirkung des aktiven Serums genau die gleiche wie die des Immunserums wäre und von zwei Komponenten abhinge. Bordet gebraucht die Bezeichnung „substance sensibilisatrice" für den sensibilisierenden Bestandteil, während Ehrlich und Morgenroth die Ausdrücke Zwischenkörper oder Ambocepter anwenden. Buchners Alexin ist nicht mehr identisch mit dem Alexin von Bordet; letzteres ist dasselbe, wie das Komplement von Ehrlich und Morgenroth.

---

[1]) Pfeiffer, Weitere Mitteilungen über die spezifischen Immunkörper der Cholera. Zeitschr. f. Hygiene **20**, 198, 1895.

[2]) Metschnikoff, Recherches sur la destruction extracellulaire des bactéries. Annales de l'Inst. Pasteur **9**, 433, 1895.

[3]) Bordet, Sur le mode de l'action des serums preventivs. Annales de l'Inst. Pasteur **10**, 193, 1896.

[4]) Derselbe, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le serum d'animeaux injectes de sang défibrinè. Annales de l'Inst. Pasteur **12**, 688, 1898.

[5]) Derselbe, Agglutination et dissolution des globules rouges par le serum. Annales de l'Inst. Pasteur **13**, 273, 1899.

[6]) Ehrlich und Morgenroth, Zu Ehrlichs Immunitätsforschung. Berlin 1904.

M. Wilde[1]) und von Dungern[2]) fanden, daß Alexin oder Komplement von verschiedenen Bakterien, Hefen und vielen nicht-spezifischen Zellen absorbiert und verbraucht wird. Levene und Baldwin[3]) fanden, daß Komplement durch Nucleinsäure, Tuberkulinsäure, sowie durch Glykogen und andere Zellen- und Gewebsbestandteile inaktiviert wird. Landsteiner und Stankowic[4]) fanden, daß Komplement von Casein, Kaolin, Cholesterin und von anderen organischen und anorganischen Substanzen absorbiert wird. Die Absorption des Alexins durch spezifische Präcipitate oder sensibilisierte Zellen wurde zuerst von Bordet[5]) beobachtet und dann von Gengou[6]), Gay[7]) und Moreschi[8]) bestätigt. Dieses Phänomen wurde für diagnostische Zwecke in der forensischen Medizin angewandt (Neisser-Sachs'sche Komplementablenkungsprobe[9]) und zum Nachweis von spezifischen Antikörpern oder Antigenen[10]).

Tarasévitch[11]) versuchte die Herkunft des Alexins zu bestimmen, das nach Metschnikoffs Theorie in den Leukocyten vorhanden ist und seine Wirkung nach dem Zerfall der Zellen offen-

---

[1]) Wilde, Über die Absorption der Alexine durch abgetötete Bakterien. Berl. klin. Wochenschr. **36**, 481, 1899.

[2]) v. Dungern, Beiträge zur Immunitätslehre. Münch. med. Wochenschr. **47**, 677, 1900.

[3]) Levene und Baldwin, On the anticomplementary action of some cell and tissue constituents. Journ. of Med. Res. **12**, 205, 1904.

[4]) Landsteiner und Stankowic, Über die Bindung von Komplementen durch suspendierte und kolloid gelöste Substanzen. Centralbl. f. Bakt. **47**, 353, 1906.

[5]) Bordet, Les serums hémolytiques et leur antitoxines. Annales de l'Inst. Pasteur **14**, 257, 1900.

[6]) Gengou, Sur les sensibilisatrices des serums actifs contre les substances albuminoides. Annales de l'Inst. Pasteur **16**, 734, 1902.

[7]) Gay, The fixation of alexins by specific precipitates. Centralbl. f. Bakt. **39**, 603, 1905.

[8]) Moreschi, Zur Lehre von den Antikomplementen. Berl. klin. Wochenschr. **42**, 1181, 1905.

[9]) Neißer und Sachs, Ein Verfahren zum forensischen Nachweise der Herkunft des Blutes. Berl. klin. Wochenschr. **42**, 1388, 1905.

[10]) Wassermann und Bruck, Exper. Studien über die Wirkung von Tuberkelbacillenpräparaten auf den tuberkulös erkrankten Organismus. Deutsche med. Wochenschr. **32**, 449, 1906.

[11]) Tarasévitch, Sur les cytases. Annales de l'Inst. Pasteur **21**, 127, 1902.

bart, und fand, daß polynucleäre Leucocyten, welche Mikroben aufnehmen, sogenannte Mikrophagen, ein Alexin abgeben, das besonders Bakterien vernichtet, während mononucleäre Leukocyten, die meistenteils nichtbakterielle Zellelemente enthalten, ein gegen die Blutkörper wirkendes Alexin ergeben. Das erstere ist Mikrocytase benannt und das letztere wegen seiner Abstammung aus den Makrophagen, Makrocytase. Die Cytasen sind thermolabil, jedoch etwas widerstandsfähiger als Serumcytase oder Alexin. Korschun und Morgenroth[1]) erklärten in ganz anderer Weise die Wirkung der Extraktlysine verschiedener Eingeweide- und drüsigen Organe. Im Gegensatz zu Tarasévitch fanden diese Autoren, daß die Extrakte verschiedener Organe größere oder kleinere Mengen hämolytischer Substanzen enthalten, denen Spezifität fehlt und Thermostabilität zukommt.

Die hämolytischen Grundstoffe sind in Alkohol und Wasser löslich. Sie sind bei 0° C aktiv und ergeben keinen Antikörper bei der Immunisierung. Woelfel[2]) erhielt aus Blutserum einen hämolytischen Anteil durch Alkoholextraktion. Diese Fraktion war nicht spezifisch, widerstand der Hitze und war bei 0° C aktiv. Die chemische Natur dieses hämolytischen Anteils ist nicht erforscht worden.

Ogata[3]) gab an, daß man einen antibakteriellen Niederschlag aus Hundeserum durch Alkohol und Äther fällen könne. Es ist nach seinen Angaben sehr thermolabil, leicht durch schwache Säure und Alkali zu inaktivieren und durch Verdauungsfermente zerstörbar. Petermann[4]) vermochte Ogatas Angaben nicht zu bestätigen. De Christmas[5]) fand auch, daß eine Alkoholfällung aus Serum auf Bakterien wirkt.

---

[1]) Korschun und Morgenroth, Über die hämolytische Eigenschaft von Organextrakten. Berl. klin. Wochenschr. **39**, 870, 1902.

[2]) Woelfel, Alcohol soluble haemolysins in blood serum. Journ. of Infect. Diseases **2**, 97, 1905.

[3]) Ogata, Über die bakterienfeindliche Substanz des Blutes. Centralbl. f. Bakt. **9**, 597, 1891.

[4]) Petermann, Sur le substance bactericide du sang. Annales de l'Inst. Pasteur **5**, 1506, 1891.

[5]) de Christmas, Étude sur les substances microbicides. Annales de l'Inst. Pasteur **5**, 487, 1891.

Conradi[1]) isolierte aus autolysierten Geweben mittels Alkohol und Äther eine stark bactericide Fraktion. Das Extrakt war wärmebeständig, in Alkohol löslich, in Äther unlöslich, in kaltem Wasser mit leichter Opalescenz löslich, die beim Kochen verschwand und beim Abkühlen wiederkehrte. Es wird als dialysierbar geschildert und als durch Chamberlandkerzen filtrierbar sowie beim Stehen langsam zerstörbar.

A. Kossel[2]) stellte fest, daß Nucleinsäure bactericid ist, während H. Kossel[3]) Protamin und sein Carbonat fähig fand, Bakterien zu töten. In Anbetracht der bactericiden Eigenschaft der Nucleinsäure sind die Beobachtungen von Emmerich, Loew und Korschun[4]) über die bactericide Wirkung der Nucleasen von besonderem Interesse. Die Tatsache, daß Nucleasen Nuclein spalten, — wobei Nucleinsäure frei wird und bactericide Eigenschaften auftreten, hat auffallende Ähnlichkeit mit einer lipolytischen Form der Hämolyse, die kürzlich von Noguchi[5]) beschrieben wurde; er beobachtete, daß Pankreassaft oder -Gewebe, die sonst inaktiv bleiben, hämolytisch werden, wenn gewisse Mengen neutraler Fette in der Mischung vorhanden sind. Die Hämolyse wurde hier durch die Fettsäure hervorgebracht[6]), die aus den Fetten durch Lipase abgespalten ist.

---

[1]) Conradi, Über die Bildung bacterizider Stoffe bei der Autolyse. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 193, 1901.

[2]) A. Kossel, Über die Lymphzellen. Deutsche med. Wochenschr. 20. 146, 1894.

[3]) H. Kossel, Über bacterizide Bestandteile tierischer Zellen. Zeitschr. f. Hygiene 27, 36, 1898.

[4]) Emmerich, Loew, Korschun, Die bakteriolytische Wirkung der Nucleasen und Nucleosen. Centralbl. f. Bakt. 31, 1, 1902.

[5]) Noguchi, A lipolytic form of haemolysis. Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med. 1907; ferner diese Zeitschr. 6, 185, 1907.

[6]) Neuberg und Rosenberg (Berl. klin. Wochenschr. 44, 54, 1907) lenkten die Aufmerksamkeit auf eine mögliche Verwandtschaft zwischen Lipolyse, Hämolyse und Agglutination bei den von Schlangengiften und gewissen Pflanzentoxalbuminen bewirkten Erscheinungen. Später fanden Neuberg und Reicher (diese Zeitschr. 4, 281, 1907) eine größere lipolytische Wirkung bei gewissen Immunseris als bei normalen Seris derselben Arten. — Friedemann (Deutsche med. Wochenschr. 33, 585, 1907) beschreibt — allerdings ohne Andeutungen über eine Rolle der Lipase — eine komplexe Hämolyse durch Pankreassaft oder -Gewebe. — Wohlgemuth (diese Zeitschr. 4, 271, 1907) gab an, daß gewisse Bestandteile des Pankreas sich mit Lecithin zu einem Lecithid verbinden.

Buchner[1-2]) fand, daß durch Hinzufügen einer großen Menge destillierten Wassers oder durch Dialysieren gegen fließendes Wasser die bactericide Eigenschaft des Serums verschwand und daß sie sich nach Hinzugabe von Ammoniaksalzen besser als im unbehandelten Serum erhielt. Shibayama[3]) reaktivierte das normale Serum, das für fremde Blutkörper durch Dialyse unmerksam geworden war, durch Zusatz kleiner Mengen Natriumcarbonat. Die hämolytische Kraft des Immunserums ist durch die Dialyse unbeeinflußt gefunden. Ferrata[4]) gab an, daß Komplement durch Dialyse gegen Wasser in zwei inaktive Komponenten zerlegt werden kann. Diese beiden Komponenten werden wieder wirksam, wenn man sie miteinander in Salzlösung vermischt. Andererseits fanden Sachs und Teruuchi[5]), daß die hämolytische Wirkung des normalen Meerschweinchenserums in salzfreiem Medium stärker als in salzhaltigem ist. Aber das Komplexsystem, das aus einem Immunamboceptor und einem passenden Komplement bestand, ergab ein ganz entgegengesetztes Resultat, nach welchem das Komplement in einem salzfreien Medium eine irreversible Inaktivierung erfuhr. Diese Inaktivierung, oder richtiger gesagt, Zerstörung des Komplements, schreiben sie der Wirkung eines fermentähnlichen Bestandteiles in dem angewandten Serum zu.

Das Vorhandensein hämolytischer und bakteriolytischer Komplemente in der Lymphe wurde von Meltzer und Norris[6]) sowie von Landsteiner[7]) nachgewiesen. Einengen zur Trockne bei niedriger Temperatur (20° C) nimmt dem Serum seine

---

[1]) Buchner, Über die Schutzstoffe des Serums. Berl. klin. Wochenschr. **29**, 449, 1892.

[2]) Derselbe. Die keimtötende, globulicide, und die antitoxische Wirkung des Blutserums. Münch. med. Wochenschr. **39**, 119, 1892.

[3]) Shibayama, Einige Experimente über Hämolyse. Centralbl. f. Bakt. **30**, 760, 1901.

[4]) Ferrata, Die Unwirksamkeit der komplexen Hämolysine in salzfreien Lösungen und ihre Ursache. Berl. klin. Wochenschr. **44**, 366, 1907.

[5]) Sachs und Teruuchi, Die Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium. Berl. klin. Wochenschr. **44**, 467, 250, 602, 1907.

[6]) Meltzer und Norris, The bactericidal action of lymph taken from thoracic duct of the dog. Journ. of Exp. Med. **2**, 701, 1897.

[7]) Landsteiner, Antifermentative, lytische und antilutinierende Wirkungen des Blutserums. Centralbl. f. Bakt. **37**, 290, 1900.

komplementäre Kraft nicht, und das Komplement widersteht in getrocknetem Zustand der Einwirkung von Temperaturen unter 135° C[1]. Bei Bestimmung der Charakteristik der Komplemente ist der Einfluß verschiedener Säuren, Alkalien und Salze von großer Bedeutung[2-4]. Der Einfluß von „Schutzwirkungen" liefert, wie von Noguchi[5] beschrieben wurde, noch ein anderes Unterscheidungsmerkmal für das Komplement. Pfeiffer[6] fand, daß das Komplement zerstört wird, wenn man das Serum dem Sonnenlicht bei Vorhandensein von fluorescierenden Anilinfarben aussetzt.

Überblickt man die Literatur über Alexine und Komplemente, so findet man, daß sie durch folgende Eigenschaften charakterisiert sind:

1. Spontanes Verschwinden mit der Zeit;
2. Inaktivierung bei halbstündiger Erhitzung auf 55° C;
3. Unwirksamkeit bei 0° C, trotz Vorhandenseins von Amboceptor (oder sensibilisierender Substanz);
4. Inaktivität bei Fehlen eines spezifischen Amboceptors, aber Wirksamkeit bei Vorhandensein desselben oder nach voraufgegangener geeigneter Sensibilisierung der Zellen;
5. Absorption durch nichtspezifische Zellelemente, durch sensibilisierende Zellen und Proteide sowie durch einige suspendierte und kolloidale Substanzen;
6. Hemmung durch gewisse normale Sera, sowohl frische als auf 55—60° C erhitzte, und durch „Schutzwirkung";
7. Empfindlichkeit gegen verschiedene Säuren, Alkalien und Salze;

---

[1]) Noguchi, On the influence of the reaction and of dessication upon opsonins. Journ. of Exp. Med. 9, 455, 1907.

[2]) Hektoen, The action of certain ions upon the lysin in human serum. Trans. of the Chi. Path. Soc. 10, 303, 309, 1903.

[3]) Manwaring, The action of certain salts on the complement in immune serum. Journ. of Infect. Diseas. 1, 112, 1904.

[4]) Noguchi, On the chemical inactivation and regeneration of complement. Read before the ann. Meeting of the Soc. of American Bacteriologists, 1906, December 28.

[5]) Derselbe, The thermostabile anticomplementary constituents of the blood. Journ. of Exp. Med. 8, 726, 1906.

[6]) Pfeiffer, Über die Wirkung des Lichtes auf Eosinblutgemische. Wiener klin. Wochenschr. 18, 221, 328.

8. Resistenz gegen Austrocknung und trockene Wärme;

9. Inaktivierung durch photodynamische Anilinfarbstoffe.

Bei der Alkohol- oder Alkoholätherextraktion von Serum sowie von Organ- und Gewebselementen erhält man Substanzen, die entweder hämolytisch oder bactericid sind, indem die verschiedenen Organe oder drüsigen Gewebe sowie das Blutserum wechselnde Mengen dieser lytischen Substanzen ergeben. Letztere sind durch folgende Eigenschaften charakterisiert:

1. Geringfügige Verminderung ihrer Wirksamkeit mit der Zeit;

2. Aktivität selbst nach langem Kochen;

3. Lytische Wirkung, die von einer zweiten Substanz unabhängig ist;

4. Wirksamkeit bei 0° C;

5. Mangelnde Spezifität;

6. Löslichkeit in Alkohol und kaltem Wasser unter Trübung, die beim Kochen verschwindet und beim Abkühlen wiederkehrt;

7. Aufhebung der Wirkung durch kleine Mengen normalen Serums.

Wenn man den Charakter der Komplemente und der alkohollöslichen Extraktlysine vergleicht, so findet man nicht eine einzige gemeinschaftliche Eigenschaft. Man darf hieraus jedoch nicht schließen, daß sie notwendigerweise verschiedene Körper sind, solange der Vergleich unter verschiedenen Bedingungen angestellt worden ist. Bevor irgend ein Vergleich der Substanzen der beiden Klassen vorgenommen wird, sollte man die Beobachtungsbedingungen einander so ähnlich wie nur irgend möglich machen. Im vorliegenden Falle ist es angängig, fast die gleichen Bedingungen für Extraktlysine herzustellen, indem man sie einfach mit gewissen Mengen von Normalserum vermischt. In der Tat fand sich bald, daß die Extraktlysine mehrere der charakteristischsten Eigenschaften eines Komplements annehmen und einige der ihnen im freien Zustand eigentümlichsten verlieren, wenn diese Bedingungen erfüllt werden. Von jenen erworbenen Eigenschaften sind Thermolabilität bei 55° C, der Verlust der unabhängigen Wirksamkeit, Inaktivität bei 0° C, die komplementäre Funktion und endlich das spontane Verschwinden die wichtigsten. Es muß an dieser Stelle mit Nachdruck hervorgehoben werden, daß die Komplementärwirkung nur erlangt wird, wenn die Menge des Serums gerade ausreichend ist, um die vor-

handene lytische Kraft zu verdecken, und daß der Fortschritt der Hämolyse viel langsamer erfolgt, als bei der Reaktivierung durch genuines Serumkomplement. Bisher sind alle Versuche, diese Verschiedenheiten zu beseitigen, erfolglos geblieben. In der vorliegenden Arbeit war der Hauptzweck, der verfolgt wurde, die Feststellung der Verwandtschaft zwischen Komplement und Extraktlysinen, wofür auch physikalische und chemische Arten der Identifizierung gesucht wurden. Die chemische Natur der Extraktlysine wurde ebenfalls erforscht. In den folgenden Kapiteln will ich meine Arbeit in zwei Abschnitte teilen, von denen der eine sich mit den hämolytischen, der andere mit den bactericiden Erscheinungen beschäftigen soll.

A. Hämolytische Versuche.

Die thermostabilen hämolytischen Elemente des Blutes und der Organe und ihre chemische Indentifizierung.

Blut, Leber, Niere und Milz von Hund, Rind und Kaninchen wurden mit mehreren Volumen 95 prozentigen Alkohols eine Woche lang bei 45—50° C extrahiert. Vor der Extraktion wurden die Organe zerkleinert und mit physiologischer Kochsalzlösung in eine dicke Emulsion verwandelt. Der in Alkohol lösliche Teil wurde von dem Coagulum getrennt und bei 40° C abgedampft. Der Rückstand wurde nach Verdunstung des Alkohols mit warmem Alkohol von 70° C extrahiert und die Lösung wieder abgedampft. Die getrocknete Masse wurde dann mit Äther ausgezogen, der alle Fettsäuren, neutralen Fette, Cholesterin und seine Ester sowie phosphorhaltige Fette auszog. Der in Äther nicht lösliche Teil war in der Regel klebrig, leicht gelblich und unansehnlich. Er löste sich leicht in warmem Alkohol, langsam in kaltem Alkohol und Wasser. In kaltem Wasser zeigte er leichte Opalescenz, die schnell beim Kochen verschwand und beim Abkühlen wiederkehrte. Er löste sich auch in Chloroform mit schwacher Opalescenz. Die Reaktion einer Lösung dieser Fraktion in Wasser oder Salzlösung war gegen Lackmus neutral. Fällung mit Bleiacetat und nachfolgende Äther-Extraktion entfernten den größeren Teil dieser Fraktion. Der Extrakt ergab nach Vertreibung des Äthers und Behandlung mit Schwefelwasserstoff wechselnde Mengen von Fettsäuren,

nbesoders von Ölsäure. Jede starke Säure bringt in dieser Fraktion eine milchige Treibung hervor, die zweifellos auf dem Freiwerden von Fettsäuren beruht. Osmiumsäure schwärzt die Lösung allmählich, während Phosphorwolframsäure einen dicken weißlichen Niederschlag und Brom eine gelbliche Wolke hervorrief. Die Millons Probe war negativ. Calcium- und Bariumsalze riefen stärkere oder schwächere Niederschläge hervor. Chemisch stellte diese Fraktion ein Gemisch verschiedener Seifen dar. Bei biologischer Prüfung zeigte sie eine mächtige hämolytische Wirkung nicht spezifischer Natur. Die Erdalkalien machten sie inaktiv. Die Wirkung hörte bei 0° C nicht auf und widerstand dem Kochen, wurde aber leicht durch Hinzufügen einer adäquaten Menge indifferenten Serums aufgehoben. So ist es also klar, daß diese Fraktion mit den Extraktlysinen, die von gewissen Forschern bei vielen biologischen Reaktionen beschrieben wurden, identisch war. Die Menge des Alkoholextrakts und die hämolytischen Eigenschaften sind bei den Organen und Arten verschieden. Die größte Menge erhält man vom Hunde, die geringste vom Rind. Das Blut des Hundes ergab am meisten, die Leber am wenigsten; Niere und Milz ergaben ungefähr dieselbe Menge. So wies das Extraktlysin des Hundeblutes, wenn es zum Originalvolumen in 0,9% NaCl-Lösung gelöst war, wobei der Gehalt etwa 0,1% betrug, eine solche hämolytische Kraft auf, daß 0,1 ccm der erhaltenen Lösung Hämolyse von 2,0 ccm einer fünfprozentigen Suspension gewaschener Hundeblutkörper herbeiführten. Die Blutkörper von Rind und Kaninchen sind widerstandsfähiger als die von Meerschweinchen und Hunden. Die Extraktlösungen der Niere und Milz waren weniger konzentriert und waren in größeren Mengen erforderlich, um dieselbe Wirkung hervorzubringen. Die Leberextraktlösung war so schwach, daß 1 ccm nötig war, um denselben Wirkungsgrad hervorzubringen wie 0,1 ccm der Blutextraktlösung. Die Menge der alkohollöslichen Lysine war im Rinderblut viel geringer als im Blute von Hunden und Kaninchen. Bei der letzten Art war sie fast $2^1/_2$ mal geringer als beim Hundeblut, war aber zweimal so groß wie beim Rinderblut.

Obgleich die definitive chemische Zusammensetzung dieser Fraktion nicht ins Detail festgestellt wurde, so besteht doch kein Zweifel darüber, daß sie verschiedene lösliche und schwer lös-

liche Seifen enthält, die aus dem Blute oder den Organen herrühren. Späteren Forschungen bleibt noch die Frage vorbehalten, ob in der Fraktion gewisse Seifenbestandteile vorhanden sind, deren Radikale komplizierter sind als die bisher bekannten entsprechenden anorganischen oder organischen Reste von Seifen. Mehrere Jahre sind vergangen, seit ich die Aufmerksamkeit auf die außergewöhnliche hämolytische Kraft des ölsauren Natrons lenkte[1]), und ich war daher nicht überrascht, eine starke hämolytische Kraft in der Fraktion konzentriert zu finden, die sich aus verschiedenen Seifen zusammengesetzt erwies. Um die Extraktlysine unter die Seifen bekannter Konstitution einzureihen, wurde eine systematische Untersuchung der hämolytischen Wirkung verschiedener anorganischer und organischer Seifen unternommen. Die Resultate zeigt die Tabelle I.

Tabelle I.

0,1proz. Seifenlösung und 2 ccm 5proz. Aufschwemmung von Rinderblutkörperchen.

Menge der Seifenlösung in ccm	Ammoniumoleat	Neurinoleat	Natriumoleat	Magnesiumoleat	Calciumoleat	Natriumstearat	Magnesiumstearat	Calciumstearat
2								c. H.
1							c. H.	keine H.
0,7							keine H.	
0,5					c. H.	c. H.		
0,4					Spur v. H.	keine H.		
0,3					keine H.			
0,2								
0,15								
0,1				c. H.				
0,07			c. H.	Spur v. H.				
0,05	c. H.	c. H.	Spur v. H.	keine H.				
0,04	starke H.	Spur v. H	keine H.					
0,03	keine H.	keine H.						
0,02								
0,015								
0,01								

Aus den vorhergehenden Versuchen haben wir die Tatsache abgeleitet, daß die löslichen Seifen am aktivsten sind, während bei den fast unlöslichen Calciumseifen nur eine mehr

[1]) **Noguchi**, On certain thermostabile venom activators. Journ. of Exper. Med. **8**, **1906**.

oder weniger schwache Wirkung beobachtet wird. Die Oleate sind fast zehnmal stärker hämolytisch als die entsprechenden Stearinseifen. Nach dieser Tatsache zu urteilen, müßten die Extraktlysine hauptsächlich aus Oleaten und in viel geringerem Maße aus löslichen Stearaten bestehen.

Gleich den Extraktlysinen sind die Seifen coctostabil, alkohollöslich, meist ätherunlöslich, in kaltem oder heißem Wasser unter leichtem Opalescieren löslich, nicht spezifisch, von unabhängiger Wirksamkeit, bei 0° C aktiv, nicht schnell zerlegbar; sie geben reichlich Niederschläge mit Phosphorwolframsäure und Brom und werden durch starke Säuren, die Fettsäuren freimachen, zersetzt oder gehen aus einem aktiven, löslichen in einen inaktiven, unlöslichen Zustand über, wenn man sie mit Calcium- oder Bariumsalzen vermischt. Eine kleine Menge Serum paralysiert leicht die hämolytische Wirkung der reinen Seifen.

Inaktivierung der Extratlysine und Seifen durch Serum.

Die Thatsache, daß alle höheren Acrylsäuren eine viel größere hämolytische Kraft als irgend welche Mineral- oder organischen Säuren besitzen und daß ihre löslichen Seifen viel schnellere, wenn nicht stärkere, hämolytisch wirkende Fähigkeiten besitzen, ist nicht neu[1]). Jetzt erhebt sich natürlich die Frage, wie solche kräftig wirkenden hämolytischen Substanzen im Blute vorhanden sein können, ohne die ihnen innewohnende vernichtende Wirkung auf die Blutkörperchen auszuüben. Wie erwähnt, gaben Korschun und Morgenroth[2]), welche die alkohollöslichen, coctostabilen Extraktlysine verschiedener Organe beschrieben, zu gleicher Zeit an, daß eine geringe Menge Serum die hämolytische Wirkung dieser Fraktionen aufhebt. Diese interessante Beobachtung ist von mir in der vorliegenden Arbeit völlig bestätigt worden. Weiter fand ich, daß Blutserum die hämolytische Wirkung verschiedener Seifen genau in derselben Weise wie die der Extraktlysine hindert.

---

[1]) Noguchi, On certain thermostabile venom activators. Journ. of Exper. Med. 8, 1906.

[2]) Korschun und Morgenroth, Über die hämolytische Eigenschaft von Organextrakten. Berl. klin. Wochenschr. 39, 870, 1902.

Die folgende Tabelle zeigt die Resultate:

Tabelle II.

2 ccm einer 5proz. Suspension von Hundeblutkörperchen.

Serummenge	0,1 ccm 0,1 proz. Natriumoleatlösung		0,2 ccm 0,1 proz. Magnesiumoleatlösung	
	Hundeserum	Rinderserum	Hundeserum	Rinderserum
0,1	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
0,07	" "	" "	" "	" "
0,05	" "	" "	" "	c. Hämolyse
0,04	starkeHämolyse	schwache Häm.	schwache Häm.	" "
0,03	teilw. Hämolyse	c. Hämolyse	c. Hämolyse	" "
0,02	c. Hämolyse	" "	" "	" "
0,01	" "	" "	" "	" "
0	" "	" "	" "	" "

Aus den obigen Versuchen geht hervor, daß Ölsäureseifen leicht durch kleine Mengen verschiedener Normalsera inaktiviert werden. Diese Antiseifeneigenschaft des Serums ist nicht spezifisch. Ähnliche Resultate erhielt man mit den anderen organischen Öl- und Stearinseifen. Die Menge des zur Inaktivierung einer gegebenen Art von Seife erforderlichen Serums ist direkt proportional zur hämolytischen Kraft der letzteren. Die Blutkörperchen von größerem Widerstand werden durch eine kleinere Menge Serum geschützt.

Die Neutralisierung der vorhandenen Alkalinität des Serums oder halbstündiges Erwärmen auf 56° C ändert die antihämolytische Wirkung des Serums auf Seifen nicht.

Die komplementäre Funktion der mit Serum versetzten Seifen.

Die hämolytische Wirkung von Extraktlysinen und Seifen wird leicht durch adäquate Mengen nichtspezifischen Serums aufgehoben. Welches wird aber das Resultat sein, wenn wir in eine solche inaktive Mischung vorher sensibilisierte Blutkörperchen einführen, und welche Wirkung wird die Hinzugabe einer kleinen Menge stark spezifischen Serums ohne Komplement ausüben?

Für diesen Versuch wurden gewaschene Rinder- und Meerschweinchenblutkörperchen in entsprechendem spezifischen Immunserum, das vorher auf 51° C erhitzt worden war, um die komplementäre Wirkung des Serums aufzuheben, sensibilisiert. Das Immunserum für Rinderblutkörper erhielt man von einem Schafe, das mit Ochsenblut vorbehandelt worden war und die

Stärke von 0,001 ccm = vollkommene Hämolyse von 2 ccm fünfprozentiger Suspension gewaschener Rinderblutkörper bei Gegenwart von 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement besaß. Das spezifische Serum für die Meerschweinchenblutkörperchen wurde von einem immunisierten Kaninchen genommen. Die minimale vollständige hämolytische Dosis betrug 0,02 ccm. Die Sensibilisierung wurde durch Digerieren von gewaschenen Blutkörperchen in spezifischem, inaktivem Serum im Verhältnis von 10 zu 100 ausgeführt, indem man die Emulsion eine Stunde lang bei 38° C ließ. Nach dieser Behandlung wurden die Blutkörperchen in Salzlösung gewaschen, um das Serum zu entfernen. Das folgende Experiment gibt eines der Beispiele wieder, bei welchen Ölseifen als Komplemente dienten.

Tabelle III.

	Kontrollprobe mit physiolog. NaCl-Lsg.		Meerschweinchenserum (Komplement) 0,1 ccm		Meerschweinchenserum, auf 51° erhitzt, 0,1 ccm		0,15 ccm n/100 Na-Oleat u. 0,1 ccm auf 51° erhitztes Meerschweinchenserum		0,15 ccm n/100-Ammoniumoleat und 0,1 ccm auf 51° erh. Meerschweinchenserum		0,15 ccm n/100-Neurinoleat und 0,1 ccm auf 51° erhitzt. Meerschweinchenserum	
	Normale Zellen	Sensib. Zellen	Normale Zellen	Sensib. Zellen	Normale Zellen	Sensib. Zellen	Normale Zellen	Sensib. Zellen	Normale Zellen	Sensib. Zellen	Normale Zellen	Sensib. Zellen
a) 2 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Ochsenblutkörperchen	keine Häm.	keine Häm.	keine Häm.	c. Häm. (sofort)	keine Häm.	keine Häm.	keine Häm.	c. Häm. (langsam)	keine Häm.	c. Häm. (langsam)	keine Häm.	c. Häm. (langsam)
b) 2 ccm einer 5proz. Aufschwemmung von Meerschweinchenblutkörperchen	keine Häm.	keine Häm.	keine Häm.	c. Häm. (sofort)	keine Häm.	keine Häm.	keine Häm.	c. Häm. (langsam)	keine Häm.	c. Häm. (langsam)	keine Häm.	c. Häm. (langsam)

Gewisse Unterschiede machen sich in der Geschwindigkeit der komplementären Wirkung der genuinen und der künstlichen Komplemente bemerkbar; die letzteren wirken nämlich viel langsamer als die ersteren. Man findet noch eine andere Eigentümlichkeit, wenn man Seifen als Komplemente verwendet. Während genuines Komplement nicht leicht durch einen Überschuß inaktiven Immunserums beeinflußt wird — es sei denn, daß es eine große Menge Präcipitin enthält — wird die Wirkung der Seifenserumkomplemente vollständig aufgehoben, sobald die Menge

des Immunserums eine gewisse Grenze überschreitet. Natürlich kann eine solche Inaktivierung infolge überschüssigen Serums durch Erhöhung der Seifenmengen vermieden werden.

Im folgenden Experiment wurde das spezifische Serum nicht entfernt, sondern in der Mischung belassen.

Tabelle IV.

	0,3 ccm Anti-Rinderserum vom Schaf (auf 51° erhitzt)		1,3 ccm Anti-Meerschweinchenserum vom Kaninchen (auf 51° erhitzt)	
	Kontrollprobe mit Salzlösung	plus 0,4 ccm $^{1}/_{100}$-n-Neurinoleat	Kontrollprobe mit Salzlösung	plus 0,4 ccm $^{1}/_{100}$-n-Neurinoleat
2 ccm 5 proz. Suspension v. Rinderblutkörperchen	keine Häm.	c. Hämolyse (langsam)	keine Häm.	keine Häm.
2 ccm 5 proz. Suspension von Meerschweinchenblutkörperchen	keine Häm.	Spur Häm. (langsam)	keine Häm.	c. Hämolyse (langsam)

Bei diesem Versuch finden wir, daß die empfindlicheren Meerschweinchenblutkörperchen durch Anti-Rinderimmunserum besser geschützt werden als durch Rinderserum, und dies zeigt deutlich den Einfluß der in der Mischung vorhandenen Immunkörper.

Eine ähnliche Reihe von Experimenten wurde mit Normalamboceptoren angestellt, und zwar mit ungefähr demselben Ergebnis wie mit spezifischem Serum.

Tabelle V.

	1 ccm Hundeserum (50°)		1 ccm Rinderserum (50°)		1 ccm Kaninchenserum (50°)	
	Kontrolle mit Salzlösung	0,2 ccm $^{1}/_{10}$ n-Ammoniumoleat	Kontrolle mit Salzlösung	0,2 ccm $^{1}/_{10}$ n-Ammoniumoleat	Kontrolle mit Salzlösung	0,2 ccm $^{1}/_{10}$ n-Ammoniumoleat
2 ccm 5 proz. Hundeblutkörperchen	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	Spur von Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
2 ccm 5 proz. Rinderblutkörperchen	keine Hämolyse	schwache Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	Spur von Hämolyse
2 ccm 5 proz. Kaninchenblutkörperchen	keine Hämolyse	c. Hämolyse	keine Hämolyse	c. Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
2 ccm 5 proz. Schafblutkörperchen	keine Hämolyse	c. Hämolyse	keine Hämolyse	Spur von Hämolyse	keine Hämolyse	starke Hämolyse

Noch durch ein anderes Experiment wurde die Empfänglichkeit der sensibilisierten Blutkörperchen für die hämolytische Wirkung von Seifen bewiesen. Gewaschene Schafblutkörperchen wurden mit einem spezifischen Serum von einer immunisierten Ziege sensibilisiert und dann der Wirkung von Ammoniumoleatlösungen ausgesetzt. Es ergab sich, daß eine Dosis, die nicht ausreichend war, um bei den normalen (nichtsensibilisierten) Blutkörperchen Hämolyse hervorzubringen, eine fast vollständige Hämolyse der sensibilisierten Blutkörperchen hervorrief. In einer kürzlich erschienenen Arbeit[1]) war ich imstande, eine nahe Beziehung zwischen der Empfänglichkeit verschiedener Blutarten für Gifte und ihrem Fettsäurengehalt festzustellen, derart, daß der Grad der Empfindlichkeit der Blutkörper mit der Menge der in ihnen enthaltenen Fettsäuren (hauptsächlich Ölsäure) zunimmt. Lecithin scheint in diesen Blutkörpern in einer von Giften unangreifbaren Form vorhanden zu sein, da seine Anwesenheit in den Zellen durch das Gift nicht nachweisbar ist, obgleich es bei einer Alkoholextraktion in fast gleicher Menge ohne Unterschied zwischen Empfänglichkeit und Unempfindlichkeit der Blutkörperchen abgegeben wird. Ich fand wenigstens zwei verschiedene Klassen von Giftaktivatoren im frischen Serum. Die eine war wärmebeständig, die andere thermolabil. Die thermostabilen Aktivatoren waren manchmal Eiweißverbindungen des Lecithins, die Chabriés[2-3]) Albumon ähnelten, und manchmal Ölsäure oder möglicherweise noch einige andere Fettsäuren. Über die Natur der thermolabilen Aktivatoren blieb die Wahl zwischen sogenanntem Komplement und gewissen Seifen. Tatsächlich ist es fast unmöglich, irgend einen Unterschied zwischen den Komplementen und den serumisierten Seifen festzustellen, die als Giftkatalysatoren wirken, da sie beide langsame Hämolyse von natürlich unempfindlichen, mit Gift behandelten Blutkörperchen herbeiführen und ihre Wirkung durch halbstündiges Erwärmen auf 56° C einbüßen. Temperatursteigerung über 60° C ändert die Zusammensetzung des Serums.

---

[1]) Noguchi, On extracellular and intracellular venom activators of the blood with especial reference to lecithin and fatty acids and their compounds. Journ. of Exp. Med. **9**, 436, 1907.

[2]) Chabrié, Compt, rend. de l'Acad. d. Sc. **113**, 557, 1891.

[3]) Howell, Amer. Journ. of Physiol. **17**, 280, 1906—7.

In der folgenden Tabelle sind die Werte verschiedener Seifen als Giftaktivatoren angegeben. Die Rinderblutkörperchen waren der Wirkung von Seifen bei An- und Abwesenheit von Cobragift ausgesetzt, deren eigene hämolytische Kraft durch eine genügende Menge Normalserum aufgehoben worden war. Frisches Normalrinderserum enthält gar keine Giftaktivatoren. Die Blutkörperchen wurden als 5prozentige Aufschwemmung in 3 ccm einer 0,9prozentigen Salzlösung angewendet, in der die angegebenen Mengen Seifen, Serum und Gift enthalten waren.

Tabelle VI.

	0,5 ccm normales Rinderserum pro Gläschen (zur Inaktivierung der Seifen)								
	0,2 ccm 1 proz. Natriumoleat	0,2 ccm 1 proz. Ammoniumoleat	0,2 ccm 1 proz. Neurinoleat	0,2 ccm 1 proz. Magn.-oleat	0,5 ccm 1 proz. Calciumoleat	0,2 ccm 1 proz. Natriumstearat	0,2 ccm 1 proz. Magnesiumstearat	0,5 ccm 1 proz. Calciumstearat	Kontrollprobe ohne Seife
0,5 ccm 1 proz. Cobragiftlösung	c. Häm. (verzögert)	c. Häm.	c. Häm.	c. Häm.	c. Häm. stark verzög.	c. Häm. stark verzög.	starke Häm.	schw. Häm.	keine H.
Ohne Cobragift	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.	keine H.

Die durch Hinzufügen von Serum angenommenen Eigenschaften der Seifen.

Verschiedene Ölsäureseifen werden vollständig unwirksam, wenn man sie mit ausreichenden Mengen Serum vermischt. Dieser inaktive Zustand der Seifen geht in einen aktiven über, sobald spezifische Intermediärkörper auf die Blutkörperchen wirken können, oder wenn die Blutkörper in geeigneter Weise sensibilisiert worden sind. Abgesehen vom langsameren Fortschreiten der Hämolyse als bei den genuinen Komplementen und der höheren Empfänglichkeit für die antikomplementäre Wirkung des Serums könnte man die serumisierten Seifen als Komplemente im Sinne unserer gegenwärtigen biologischen Terminologie auffassen.

Aber wie weit diese serumisierten Seifen dem genuinen Serumkomplement ähnlich sind, bleibt noch auf anderem, sicherem Wege zu erforschen.

1. Spontanes Verschwinden der komplementären Eigenschaft der serumisierten Seifen: Eine Mischung von

Ammoniumoleat und von auf 50° C erhitztem Meerschweinchenserum wurde in entsprechendem Verhältnis als Komplement für sensibilisierte Meerschweinchenblutkörperchen bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nicht erhitztes Meerschweinchenserum wurde genau denselben Bedingungen wie die serumisierte Seifenmischung ausgesetzt. Nach zwei Wochen wurde ersteres auf seine komplementäre Eigenschaft hin geprüft, und man fand, daß es seine Aktivität während der oben erwähnten Zeitdauer verloren hatte. Das Kontrollserum war ebenfalls in dieser Hinsicht inaktiv. Es wurden keine Versuche angestellt, um die kürzeste zur Inaktivierung der Mischung erforderliche Zeitdauer festzustellen.

2. Inaktivierung der serumisierten Seifen bei 50° C: Alle löslichen Seifen, besonders die Ölsäureseifen verlieren, wenn sie mit Serum vermischt sind, bei halbstündiger Erhitzung auf 56° C ihre komplementäre Wirkung. In dieser Hinsicht zeigen die serumisierten Seifenkomplemente eine auffallende Ähnlichkeit mit Serumkomplementen.

3. Der Einfluß niedriger Temperatur auf die komplementäre Wirkung serumisierter Seifen: Wie die Serumkomplemente sind die serumisierten Seifen in bezug auf ihre komplementäre Wirkung bei 0° C inaktiv.

4. Die Wirkung verschiedener Säuren, Alkalien und Salze auf serumisierte Seifen: Wie bei den Serumkomplementen wird die komplementäre Wirkung der serumsierten Seifen durch verschiedene Säuren, mit Ausnahme der höheren Fett- und Acrylsäuren, aufgehoben. Einige Calcium- und Bariumsalze sind kräftig antihämolytisch. Bindung der Säuren durch entsprechende Alkalien stellt die Aktivität wieder her, und die inaktiven Seifen werden durch entsprechende Salze wieder wirksam gemacht. Die Inaktivierung serumisierter Seifen durch Säuren geschieht durch die Abspaltung von Fettsäuren, mit denen das Serum inaktive Verbindungen bildet. In einem eiweißfreien Medium erfolgt durch Säuren keine Inaktivierung, da in diesem Falle die freigewordenen Fettsäuren eine kräftige hämolytische Wirkung ausüben. Wie Serumkomplement werden serumisierte Seifen durch Calciumcarbonat nicht sehr angegriffen, während in einer eiweißfreien Flüssigkeit allmählich unlösliche Calciumseifen gebildet werden und die hämolytische Kraft infolgedessen verloren geht oder sinkt. Die Wirkung schwacher Alkalien auf Serum-

komplemente ist eine hemmende, und dasselbe gilt von den serumisierten Seifen, obwohl der störende Einfluß bei letzteren weniger ausgesprochen ist. Bei einem eiweißfreien Medium beschleunigt das Hinzufügen von Alkali den durch Seifen verursachten Eintritt der Hämolyse. Es kann behauptet werden, daß die Extraktlysine sich in bezug auf obige Reaktionen von den Seifenlösungen nicht unterscheiden.

5. Inaktivierung der serumisierenden Seifen durch Zellelemente: Ein vollständiger Verlust der komplementären Eigenschaft serumisierter Seifen wurde nachgewiesen, wenn die Mischungen zwei Stunden lang mit Hefezellen, Leber-, Nieren- und Milzzellen, B. anthracis und B. typhi bei 37° C behandelt waren. Cholesterin verzögert in großer Menge die komplementäre Wirkung, aber sein Einfluß ist unsicher. Sogar in einer eiweißfreien Lösung wird die hämolytische Kraft der Seife mehr oder minder durch Berührung mit den obenerwähnten Zellarten geschwächt.

6. Der hemmende Einfluß von „Schutzstoffen“: Aus Serum, Leber, Niere, Milz, Diplococcus intracellularis und Gonokokken gewonnene Schutzstoffe verhindern die Hämolyse durch Seifen.

7. Einfluß beschleunigter Oxydation durch photodynamische Substanzen. Direktes Sonnenlicht zerstörte bei Gegenwart von 0,025% reinem Eosin sowohl die komplementäre Wirkung der serumisierten Seifen als genuines Serumkomplement innerhalb 6 Stunden. Die Kontrollproben ohne diesen Farbstoffzusatz behielten noch einen erheblichen Teil ihrer Aktivität nach dem Exponieren, während die Kontrollproben mit Farbstoff im Dunkeln keine bemerkenswerte Abnahme aufweisen. Eine eiweißfreie Seifenlösung erfährt, wenn sie mit reinem Eosin vermischt und dem Sonnenlicht mehrere Tage lang ausgesetzt wird, nur eine leichte Beeinträchtigung.

B. Bactericide Versuche.

Obgleich die Versuche noch in mancher Beziehung unvollständig sind, möchte ich doch an dieser Stelle einige vorläufige Angaben über die bactericide Eigenschaft gewisser Ölsäureseifen machen. Während viele Untersuchungen die Ansicht stützen, daß das die Bakteriolyse herbeiführende Komplement sich von dem die Hämolyse bewirkenden unterscheidet, ist das Serum-

komplement der Absorption durch sensibilisierte Bakterien ebenso wie durch sensibilisierte Blutkörperchen unterworfen. Die Bildung spezifischer Präcipitate verursacht das Verschwinden des Komplements in vivo und in vitro. Der Verlust des Komplements in vivo wird durch die Abwesenheit von Bakteriolyse[1]) und Hämolyse[2-3]) bewiesen. Ältere Experimente geben an, daß Leukocytenextrakte bakteriolytisch sein können, ohne zu gleicher Zeit hämolytisch zu sein. Aber man muß die Tatsache betonen, daß kein Beweis dafür existiert, daß der Unterschied durch Mangel an Komplement verursacht war. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Extrakte frei von hämolytischen Amboceptoren, aber nicht von Komplement waren. Die Erscheinungen sprechen heutzutage mehr für die Ansicht, daß sowohl bakteriolytische als hämolytische Komplemente einander vertreten, wenn nicht identisch sind.

Die Resultate der oben angegebenen hämolytischen Experimente veranlaßten mich zu Nachforschungen darüber, ob die serumisierten Seifen nicht imstande sind, normale und spezifisch bakteriolytische Intermediärkörper zu aktivieren.

Die normalen Sera von Hund, Kaninchen und weißer Ratte wurden wechselseitig gegen B. anthracis und B. typhosus geprüft, und zwei Immun-Sera gegen B. typhosus und B. dysenteriae.

Die angewandte Technik ist dieselbe, die Neisser und Wechsberg[4]) angegeben haben; sie bestand darin, daß $^1/_{5000}$ ccm einer 24stündigen Bouillonkultur der Einwirkung der Mischung ausgesetzt und dann beobachtet wurde.

Bei B. anthracis wurde eine Emulsion einer 24 Stunden alten Agarkultur in 0,9 proz. Salzlösung bei 16° C hergestellt. Die Schätzung der bactericiden Kraft wurde bewerkstelligt, indem man die Zahl der Kolonien zählte, die auf mit fünf Ösen der Mischung geimpften Agarboden nach sechsstündigem Verweilen

---

[1]) Pfeiffer und Moreschi, Über scheinbare antikomplementäre und Antiamboceptorwirkungen präcipitierender Sera im Tierkörper. Berl. klin. Wochenschr. 43, 33, 1906.

[2]) Ehrlich und Morgenroth, loc. cit.

[3]) Fleischmann und Michaelis, Über experimentell in vivo erzeugten Komplementschwund. Med. Klinik 2, 21, 1906.

[4]) Neisser und Wechsberg, Über die Wirkungsweise bactericider Sera. Münch. med. Wochenschr. 43, 697, 1901.

bei 37° C gewachsen waren. Das Gesamtvolumen betrug gleichmäßig 2,5 ccm und jedes Röhrchen enthielt drei Tropfen Bouillon, um das Verhungern der Bakterien zu verhüten.

Die Tabellen VII und VIII zeigen die Resultate mit normalen Seris. Die Menge des in einem Röhrchen enthaltenen Serums betrug 0,5 ccm.

Tabelle VII.

B. typhosus und normales Serum.

	0,5 ccm frisches Serum	0,5 ccm auf 60° erhitztes Serum					Seifenlösung ohne Serum			Kontrollprobe mit reiner Salzlösung
		Ohne Komplement	+ 0,1 ccm Meerschweinchenserum	+ 0,5 ccm 1/100 n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Neurinoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Natriumoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Neurinoleate	+ 0,5 ccm 1/10 n-Natriumoleat	
Hundeserum	wenige Hundrt.	einige Tausnd.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	einige Zehntausend
Kaninchenserum	wenige Hundrt.	unzählige	einige Tausnd.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	unzählige
Rattenserum	wenige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	einige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	unzählige

Tabelle VIII.

B. anthracis und normales Serum.

	0,5 ccm frisches Serum	0,5 ccm auf 60° erhitztes Serum					Seifenlösung ohne Serum.			Kontrolle mit reiner Salzlösung
		Ohne Komplement	+ 0,1 ccm Meerschweinchenserum	+ 0,5 ccm 1/100 n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Neurinoleat	+ 0,5 ccm 1/100 n-Natriumoleat	0,5 ccm 1/100 n-Ammoniumoleat	0,5 ccm 1/100 n-Natriumoleat	0,5 ccm 1/100 n-Neurinoleat	
Hundeserum	wenige Tausnd.	einige Tausnd.	wenige Tausnd.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	0	0	0	einige Tausnd.
Kaninchenserum	wenige Hundrt.	wenige Tausnd.	wenige Hundrt.	ungef. Hundrt.	ungef. Hundrt.	ungef. Hundrt.	0	0	0	einige Tausnd.
Rattenserum	0	einige Tausnd.	beinahe Hundrt	wenige Zehn	wenige Zehn	wenige Zehn	0	0	0	einige Tausnd.

B. typhosus wurde durch keines der drei Sera in frischem Zustand vollständig getötet, aber die Vermehrung wurde verhindert, wie man aus der Zahl der auf den „Salzkontroll"-Böden erscheinenden Kolonien ersehen kann. Erhitzte Sera (auf 60° C)

bildeten gute Nährböden, und daher zeigte sich reichliches Wachstum auf ihnen. Reaktivierung des erhitzten Serums durch Hinzufügen von 0,1 ccm frischen Meerschweinchenserums pro Gläschen, war teilweise von Erfolg. Andererseits stellte das Hinzufügen von Oleat-Seifen, einschließlich Ammonium-, Neurin- und Natrium-Seifen, in einer Menge von 0,5 ccm $^1/_{100}$-n pro Gläschen, etwa denselben Grad antibakterieller Wirkung dar, wie die des frischen Normalserums. Es ergab sich jedoch, daß diese Seifen in einem serumfreien Medium stärker bactericid sind. B. anthracis wurde in einem serumfreien Medium, das 0,5 ccm von $^1/_{100}$ n-Seifenlösung enthielt, vollständig zerstört, während in einer seifenfreien Flüssigkeit eine starke Vermehrung erfolgte. Von den drei Normal-Seris zerstörte das der weißen Ratte den Anthrax-Bacillus am kräftigsten und das des Hundes war fast inaktiv. Das durch einstündiges Erhitzen auf 60° C inaktiv gewordene Rattenserum wird durch Hinzufügen von 0,1 ccm frischem Meerschweinchen- oder Kaninchenserum wieder aktiv. Man fand, daß Mischung von inaktiviertem Rattenserum (60° C) und von Seifenlösung eine Verminderung der der Seife innewohnenden bactericiden Kraft ergibt, und zwar durch die Antiseifeneigenschaft des Serums und eine vom Serum vermöge der vorhandenen Seife angenommene ausgeprägte bactericide Kraft. Das erhitzte Hundeserum weist eine größere antibakterielle Kraft gegen Seifen auf, was seine Erklärung im Mangel an genügend Intermediärkörpern finden kann, um die zerstörende Kraft der einmal durch das Serum paralysierten Seifen zu beschleunigen.

Die Resultate mit Immunserum zeigen deutlicher als die mit Normalserum, daß Oleatseifen als bactericide Komplemente wirken können. Wie Tabelle IX erkennen läßt, bewirkte 0,1 ccm frischen Antityphusserums von einem immunisierten Kaninchen eine beträchtliche Hemmung des Wachstums von B. typhosus. Diese Hemmungswirkung verschwand bei halbstündiger Erwärmung auf 56° C und kehrte bei Hinzufügen von 0,1 ccm frischen Meerschweinchenserums zum erhitzten Serum zurück. Alle Oleatseifen sind auch antibakteriell gegen typhoide Bacillen und bewirken ausgesprochene Einschränkung ihrer Vermehrung, wenn sie in der in der Tabelle angegebenen Konzentration verwendet werden. Ihre Wirksamkeit übertraf die Kraft des in diesem Experiment benutzten frischen Immunserums. Das auffallendste Versuchs-

ergebnis ist jedoch die Wirkung der Oleatseifen auf das inaktivierte Immunserums. Man fand, daß das Vorhandensein einer kleinen Menge des inaktiven Immunserums die bactericide Kraft der Seifen gegen B. typhosus vermehrte. In diesem Falle scheint es sich um einen tatsächlichen Komplementamboceptor vom Lysintypus zu handeln.

Tabelle IX.

B. typhosus und antityphoides Immunserum.

0,1 ccm frisches Immunserum	0,1 ccm auf 56° erhitztes Immunserum					Seifenlösung ohne Serum			Kontrollprobe mit reiner Salzlösung
	Ohne Komplement	+ 0,1 ccm Meerschweinchenserum	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Neurinoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Natriumoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Neurinoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$ n-Natriumoleat	
einige Hundert	unzählige	wenige Hundert	0	0	zehn	wenige Hundert	wenige Hundert	wenige Hundert	unzählige

Ein ähnliches, aber weniger ausgesprochenes Resultat erhielt man mit B. dysenteriae und einem alten Pferdeimmunserum. Bei diesem Beispiel finden wir wieder das Phänomen der teilweisen Reaktivierung eines unwirksamen Immunserums durch Hinzufügen einer gewissen Menge löslicher Oleatseifen.

Tabelle X.

B. dysenteriae und Antidysenterie-Immunserum.

0,2 ccm unwirksames Immunserum	0,2 ccm inaktives Immunserum					Seifenlösung ohne Serum			Kontrollproben mit reiner Salzlösung
	+ 0,1 ccm Meerschweinchenserum	+ 0,2 ccm Meerschweinchenserum	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Ammoniumoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Neurinoleat	+ 0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Natriumoleat	0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Ammoniumoleat	0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Neurinoleat	0,5 ccm $^1/_{100}$-n-Natriumoleat	
unzählige	einige Tausnd.	etwa tausend	etwa hundert	etwa hundert	etwa hundert	wenige Hundrt.	wenige Hundrt.	einige Hundrt.	unzählige

Die Kontrollproben mit inaktiviertem Normalpferdeserum zeigten, daß die Mengen von 0,1 ccm bis 0,2 ccm Serum die den Oleatseifen innewohnende lytische Kraft bis zu einem beträchtlichen Grade verminderten.

Während die oben angegebenen Experimente zu zeigen scheinen, daß unter gewissen Bedingungen der Immunsera lös-

liche Oleatseifen als Komplemente dienen können, fand ich mehrere Fälle, bei denen das Phänomen der Reaktivierung nicht auftrat. Ich arbeitete mit einem Stamme des Vibrio der asiatischen Cholera und mit einem Kaninchen-Immunserum von beträchtlicher Aktivität und fand, daß das einmal durch Erhitzung auf 56° inaktivierte Serum bloß als antibactericide Substanz gegen den Einfluß der Oleatseifen wirkte. Es sei bemerkt, daß ölsaures Natrium ein sehr kräftiges Vibriocid ist. Das Hinzufügen von 0,2 ccm einer zweiprozentigen Seifenlösung zu 1 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur genügt, um die Mischung im Laufe von mehreren Stunden bei 38° C zu sterilisieren. Es ist jedoch zu hoffen, daß noch zahlreichere Versuche mit verschiedenen Abänderungen und unter wechselnden Bedingungen angestellt werden, um die Wichtigkeit und den Umfang der Bedeutung von gewissen löslichen Seifen für die Schutzmaßregeln des lebenden Organismus gegen eindringende fremde Mikroorganismen zu bestimmen.

Zwar können die Ölsäureseifen nicht alle Komplementärsubstanzen, die im Blute vorhanden sind, repräsentieren, oder sind vielleicht auch nicht die wesentlichen unter ihnen, doch verdient ihre ausgesprochene komplementäre Wirkung bei hämolytischen sowohl als bei bactericiden Intermediärkörpern mehr Aufmerksamkeit, als man ihr bisher zugewendet hat.

Zusammenfassung.

Das Blutserum hat einen Bestandteil, der als Alexin oder Komplement bekannt ist und Blutkörperchen oder Bakterien auflöst, wenn letztere in geeigneter Weise sensibilisiert sind. Die Wirkung des Komplements verschwindet, wenn das Serum alt wird oder kurze Zeit lang auf 56° C erhitzt ist. Das Schicksal des Komplements nach der Erhitzung oder Beeinträchtigung durch Alter ist nicht bekannt, aber es wird allgemein angenommen, daß es zersetzt wird. Blutserum ergibt bei Extraktion mit warmem Alkohol eine Substanz oder eine Gruppe von Substanzen mit kräftigem Lösungsvermögen. Dasselbe gilt von Leukocyten, Drüsenzellen und gewissen inneren Organen. Hinsichtlich einiger Unterschiede im lytischen Mechanismus und in der Wärmebeständigkeit zwischen Genuinserumkomplement und Extraktlysin war kein direkter Vergleich angestellt worden, um eine

mögliche Verwandtschaft zwischen den beiden zu entscheiden. Komplement ist bloß in Anwesenheit von Immunkörpern lytisch, während die Extraktlysine an sich wirksam sind. Die Wirkung des Komplements nimmt mit der Zeit ab und wird durch eine Temperatur von 56° C unterdrückt, wohingegen die Extraktlysine sich mit der Zeit nicht verschlechtern oder beim Kochen verschwinden. Es ist die heutige allgemeine Auffassung, daß sie zwei ganz verschiedene Köperklassen sind. Bis heute ist keine Angabe über die Rolle, welche die anderen Serumkomponenten spielen, gemacht worden. Ein Vergleich, der unter verschiedenen Bedingungen angestellt ist, hat keinen Wert, und Betrachtungen über diesen Punkt bilden den ersten Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Ich erhielt aus Blut, Leber, Niere und Milz von Hund, Kaninchen und Rind durch längere Extraktion mit warmem Alkohol eine alkohollösliche Fraktion. Es ergab sich, daß dieser Anteil nach Befreiung von Neutralfetten, Fettsäuren, Lecithin, Cholesterin und anderen in Äther löslichen Substanzen stark hämolytisch war. Seine Wirkung ist nicht spezifisch und erfordert keine Intermediärkörper. Diese Fraktion besteht aus verschiedenen Seifen, besonders aus Ölsäureseifen, die dem Blut und den Geweben entstammen. Zugabe einer geeigneten Menge indifferenten oder nicht spezifischen Serums zu dem Extrakt vermindert seine lytische Wirkung. Aber diese Inaktivierung ist nur oberflächlich; denn die Mischung ist nicht unwirksam gegen Blutkörperchen, die mit spezifischen oder normalen Intermediärkörpern behandelt sind, noch ist sie bei Gegenwart einer entsprechenden Menge Immunserums ohne Einfluß, mit anderen Worten: diese Seifenfraktion oder das Extraktlysin erwirbt die Eigenschaft, als Komplement zu wirken. Dieses künstliche Komplement kann leicht durch einhalbstündige Erwärmung auf 56° C oder durch eine Woche langes oder längeres Stehenlassen bei Zimmertemperatur inaktiviert werden. Die komplementäre Wirkung bleibt bei 0° C aus. Wie Serumkomplement wird es inaktiv, wenn man es mit adäquaten Mengen von Erdalkalisalzen starker Säuren und jeder stärkeren Säure als Kohlensäure vermischt. Alkalien verzögern die Wirkung des Gemisches. Man findet, daß die Seifenfraktion in einer eiweißfreien Lösung durch Säuren oder Alkalien nicht inaktiviert werden kann. Ohne Eiweißgehalt kann kein Unwirksamwerden bei 56° C oder durch Alter oder bei

0° C erreicht werden. Alle diese Eigenschaften des Komplements können möglicherweise der Gegenwart von Serumproteinen zugeschrieben werden.

Meine Versuche mit reinen Präparaten verschiedener Seifen bestätigen nicht nur die obigen Befunde, sondern liefern ferner eine Erklärung für den Inaktivierungsvorgang bei den Extraktlysinen des Blutes und der Gewebe durch verschiedene Erdalkalisalze.

Ob derselbe Mechanismus für die Inaktivierung des Genuinserum-Komplements durch diese Salze angenommen werden muß, kann nicht festgestellt werden, obgleich das Phänomen eine sehr große Ähnlichkeit zeigt. Bei diesen Versuchsreihen wurden Oleate sowohl als Stearate von Ammonium, Neurin, Natrium, Magnesium und Barium angewandt. Ölsäureseifen sind in 0,9 proz. Salzlösung löslicher als die entsprechenden Stearate. Hinsichtlich der hämolytischen Wirksamkeit kann man festsetzen, daß die Oleate fast 10 mal so kräftig wie die Stearate wirken und daß alle unlöslichen Seifen fast ohne lytische Wirkung sind. Von den Oleaten ist Neurinseife die am leichtesten und Ammoniumseife die am schwersten lösliche. Ebenso wie die Seifenfraktion des Blutes oder der Gewebe werden alle diese Seifen beim Vermischen mit Serum inaktiv. Der Wert der mit Serum versetzten (serumisierten) Ölsäureseifen als Komplemente für Serum und Giftamboceptoren ist der gleiche wie der von Extraktlysinen. Die Wirkung verschiedener physikalischer und chemischer Einflüsse auf ihre Aktivität ist genau dieselbe wie bei den Extraktlysinen. Mit Bezug auf die Hämolyse ist die komplementäre Wirkung der serumisierten Oleate beträchtlich langsamer als die von genuinem Serumkomplement und wird noch mehr durch die Gegenwart von Serumbestandteilen verzögert. Diese Unterschiede zwischen künstlichen und natürlichen Komplementen sind nicht so ausgesprochen, wenn Gift als Sensibilisator gebraucht wird.

Die Komplementäreigenschaft der Seifenserummischung und des Serumkomplements wird leicht durch photodynamische Substanzen zerstört.

Die eiweißfreien Lösungen verschiedener Ölsäureseifen sind, wenn sie in der Konzentration von $^1/_{100}$ bis zu $^1/_{500}$-n angewendet werden, in hohem Maße bactericid. Es ist festgestellt, daß B. anthracis und Vibrio cholerae für die Wirkung von Seifen

empfindlicher sind als B. typhosus und B. dysenteriae. Die bactericide Eigenschaft der Seifen wird durch Mischung mit Serum stark herabgesetzt. Während inaktives Normalserum die bactericide Kraft bis zu einem gewissen Grade einschränken kann, kommt es oft vor, daß die Gegenwart von Seifen im Serum letzterem eine mehr oder minder bactericide Kraft verleiht, die wohl als eine Art von Reaktivierungserscheinung aufgefaßt werden kann. In diesem Falle handelt es sich indessen um ein Phänomen von chemischer Zerstörung. Die Experimente mit Immunserum ergaben andererseits ein etwas abweichendes Ergebnis. Unter gewissen Bedingungen beobachtete man, daß die Mischung von Ölsäureseifen und inaktivierten Immunseris eine vollkommenere Zerstörung der Bakterien hervorbrachte als Seifen allein. Es kann sein, daß diese Erscheinung in die Kategorie der chemischen Desinfektion fällt, die Tatsache jedenfalls, daß die bakterientötende Kraft der Seifen durch die Anwesenheit spezifischer Immunkörper stark beschleunigt wurde, ist von besonderem biochemischen Interesse.

Abgesehen davon, daß gewisse lösliche Seifen aus Blut und Organen durch Behandlung mit warmem Alkohol extrahiert werden können und daß sie beträchtliche lytische Kraft besitzen, sowie im Gemisch mit Serum fast jede Eigenschaft von sogenanntem Serumkomplement annehmen und daß alle die Erscheinungen durch Anwendung chemisch reiner Seifen wiedergegeben werden können, kann man keine Schlüsse in bezug auf die Identität serumisierter Seifen und genuiner Serumkomplemente ziehen Die im Blute und in der Lymphe enthaltenen Seifen- und Fettsäuremengen bilden die Grundlage für die Meinung, daß ein gewisser Teil der Schutzkraft des Organismus diesen Seifensubstanzen zuzuschreiben ist.

Über die Permeabilität künstlicher Lipoidmembrane für Profermente.

Von

S. P. Swart,
Assistenten.

(Aus dem pathologischen Laboratorium [Prof. Ruitinga] der Universität von Amsterdam.)

Eingegangen am 12. September 1907.

Bei dem Stoffaustausch zwischen der Zelle und der sie umspülenden Gewebsflüssigkeit spielen Diffusionsvorgänge eine große Rolle. Kurz genommen, wird der Stoffaustausch und der Ausgleich von Konzentrationsdifferenzen nur durch Diffusionsvorgänge vermittelt.

Die das Protoplasma zusammensetzenden Stoffe sind größtenteils kolloidaler Natur; die Frage ist also berechtigt, ob hierdurch eine Abweichung vom gewöhnlichen Ablauf der Diffusionsvorgänge bedingt wird. (K. Mayer, Über die Diffusion in Gallerten.[1]))

Eine den Fermenten allgemein zukommende Eigenschaft ist die Fähigkeit, festen Körpern anzuhaften.

Diese Eigenschaft hat eine physiologische Bedeutung: durch sie wird ermöglicht, daß bestimmte Teile des Zellprotoplasmas bestimmte Fermente an sich ziehen, so daß diese nicht gleichmäßig durch die ganze Zelle verteilt sind, sondern ihre Wirkung streng örtlich entfalten. (F. Dauwe, Über die Absorption der Fermente durch Kolloide.[2]))

Bei seinen Untersuchungen fand Dauwe die absorbierende Wirkung des Cholesterins nicht so stark, als er auf Grund der

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 393. 1906.
[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 426. 1905.

Verwendung dieses Fällungsmittels für die Isolierung des Pepsins nach Brücke hätte erwarten können.

Handelt es sich bei der Fermentaufnahme um eine Fixation des Fermentes auf der Oberfläche des Substrats oder um ein Eindringen in dasselbe?

Die Versuche Dauwe's lehrten, daß mit Pepsin beladenes Eiweißkoagulum seine Ladung an im Überschuß vorhandenes flüssiges Eiweiß fast ganz wieder abgibt. Um diese Tatsache noch weiter experimentell bestätigen zu können, verwendete er kleine Diffusionsapparate, aus beiderseits offenen Glasröhrchen von 6 cm Länge und 1 cm Durchmesser bestehend, und an einem Ende durch eine Schicht von geronnenem Eiweiß verschlossen. Nur in einzelnen Fällen war der Übergang von Pepsin in die Eiweißlösung wenigstens angedeutet.

Seit den so genau ausgeführten und beschriebenen Versuchen O. Pascucci's[1]), in welche er die Hämolyse an künstlichen Membranen, welche durch Imprägnierung von Seide mit Cholesterin und Lecithin erhalten wurden, nachahmte, und mit Hilfe deren er die Rolle dieser Lipoide bei der Hämolyse zeigte, hat keiner, so weit ich die Literatur übersehe, sich mit derartigen Experimenten beschäftigt.

Doch lag es einigermaßen nahe, diese Versuchsmethodik auch für die Lösung der Frage anzuwenden, ob es gelinge, andere Stoffe, ebenfalls kolloidaler Natur, durch Lipoidmembranen diffundieren zu lassen.

Damit wäre eine biologisch sehr wichtige Tatsache dargestellt. Man hat sich vorzustellen, daß die Oberflächenschicht eines lebenden Protoplasten von einer Haut aus Lipoiden gebildet ist; da ja die Lipoide allgemein in allen Zellen vorkommen, können siein der Tat als die gesuchten Membranbildner angesehen werden.

Es hat sich nun gezeigt, daß die Plasmahaut eigentlich für fast alles undurchlässig ist, was normalerweise die Zelle braucht oder was sie produziert. Diese Erkenntnis, welche den Overtonschen Studien entsprungen ist, ist überaus wichtig, denn mindestens bedeutet sie eine präzise Fragestellung für das Problem der Zellernährung, der Zellsekretion und der Zellexkretion. (R. Höber.)

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **6**, 552. 1905.

Seit Graham wissen wir, daß Krystalloide zwar Kolloide durchdringen können, Kolloide es aber nicht können. Die genaue Untersuchung hat freilich auch hier wieder gelehrt, daß von einer der „beiden Welten“ Brücken in die andere führen; so zeigte Spiro[1]), daß Eieralbumin und Hämoglobin Leimschichten zu durchwandern vermögen, und Dauwe (s. o.), daß Pepsin tief in Würfel koagulierten Eiweißes eindringt. (R. Höber.)

So weit ich sehe, hat man die Diffusionsfähigkeit der Profermente durch Lipoidmembranen nicht geprüft. Die Fermente entstehen nicht als solche in der Zelle, sondern in einer Art von unwirksamer Vorstufe, als Profermente.

Können diese Profermente zu jeder Zeit aus den Drüsenzellen hinausgehen, oder ist eine vorhergehende Änderung der Plasmahaut dafür ein Erfordernis? Kommt eine derartige Zustandsmodifikation der Zellhaut durch intrazelluläre oder extrazelluläre Wirkungen zustande?

Die folgenden Seiten enthalten einen Versuch, die erste dieser Fragen zu lösen, d. h. ich habe mit Hilfe einer Profermentlösung und von artifiziellen Lipoidmembranen geprüft, welche Zusammensetzung diese nachgeahmten Zellhäute haben müssen, damit die Profermente am schnellsten passieren können.

Bei der Ausführung dieser Experimente war eine Profermentlösung konstanter Zusammenstellung erforderlich. Für die Zubereitung wendete ich die Methode Glaeßners[2]) an.

Als Material dienten ausschließlich Schweinemagen; diese wurden mit Wasser abgespült und sorgfältig von Schleim und Nahrungsresten befreit. Darauf wurde die Schleimhaut von der Muskulatur abpräpariert, dann mittels der Fleischhackmaschine zu feinem Brei zerhackt. Der Schleimhautbrei wurde abgewogen, mit der doppelten Gewichtsmenge destillierten Wassers und mit Natriumcarbonatlösung bis zu deutlich alkalischer Reaktion versetzt. Nach Zusatz von Toluol wurde das Standgefäß geschlossen und nach wiederholtem Umschütteln drei bis vier Wochen bei 37° C gestellt.

Der so erhaltene Schleimhautauszug war deutlich alkalisch, er wurde filtriert, mit Kochsalz bis zu einem Gehalt von 1%,

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 276. 1904.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 1. 1902.

dann mit so viel verdünnter Essigsäure versetzt, daß ein flockiger Niederschlag, zum größten Teil aus Mucin bestehend, ausfiel. Der Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde mit Natriumcarbonat genau neutralisiert, mit einem Überschuß von Natriumcarbonat eben schwach alkalisch gemacht und dann tropfenweise mit verdünnter Uranylacetatlösung versetzt. Es entstand ein voluminöser dickflockiger Niederschlag, der die beiden Profermente enthielt.

Der Niederschlag wurde von der Flüssigkeit getrennt und dann mit kleinen Mengen schwach mit Natriumcarbonat alkalisch gemachten Wassers ausgezogen. Die Auszüge, welche die Profermente enthielten, wurden vereinigt und bildeten eine klare, fast eiweißfreie Lösung. Sie hatten keinerlei fermentative Beschaffenheit, enthielten also keine wirksamen Fermente. Erst nach Versetzung mit Salzsäure zeigten sich sowohl peptische wie labende Eigenschaften.

Zur Herstellung meiner Dialysatoren benutzte ich nach der Angabe Pascucci's 5 cm hohe, 5 mm weite Glasröhrchen, deren eine Öffnung mit feinem weißen Seidenstoff überbunden war. Dieser Seidenstoff wurde nun mit Cholesterin oder Lecithin oder Gemengen davon sorgfältig imprägniert. Zu diesem Zwecke löste ich Lecithin in warmem Alkohol, ließ bis zum Sirup verdunsten und tauchte dann das mit Seide überbundene Ende des Röhrchens in die Lösung. Die Cholesterinmembranen erhielt ich durch Eintauchen in vorsichtig geschmolzenes Cholesterin oder in Lecithin-Cholesteringemenge (letztere bereitet durch Lösen beider Substanzen in dem gewünschten Gewichtsverhältnis, in warmem Alkohol und Eindunsten). Nach der Imprägnation wurden die Röhrchen da, wo die Seide befestigt war, mit geschmolzenem Wachs umgeben.

Die Undurchlässigkeit der Schicht wurde so geprüft, daß die Röhrchen mit dem verschlossenen Ende in Wasser gesenkt wurden. Wenn sie sich nicht in 24 Stunden als völlig undurchlässig erwiesen, wurden sie beseitigt.

Bei der Anwendung von Lecithin dienten mir einerseits das Ovo-Lecithin-Merck, andererseits ein von meinem Kollegen F. A. Steensma verfertigtes Präparat. Das Cholesterin wurde ebenfalls von Merck-Darmstadt bezogen.

Meine Experimente lassen sich in drei Gruppen ordnen:

a) Versuche mittels Lecithinmembranen; b) Versuche mit Cholesterinmembranen; c) Versuche mittels Membranen gemischter Zusammenstellung.

a) Wenn ich in einen, mittels einer Lecithinmembran verschlossenen Dialysator eine gewisse Menge der obengenannten Profermentlösung brachte und die Zelle samt ihrem Inhalt in eine Umgebung physiologischer Salzlösung aufhängte, dann stellte sich heraus, daß schon nach Verlauf eines Tages (zuweilen nach einigen Stunden, abhängig von der Dicke der Schichte) Profermente in die umstehende Lösung übergegangen waren, denn nach Zusetzung von Salzsäure bis zu einem Gehalt von 0,4% wurde Fibrin in kurzer Zeit gelöst und Milch zur Gerinnung gebracht.

Für die Prüfung auf peptische Wirkungen wendete ich neben Carminfibrin immer Mettsche Röhrchen an; Anwesenheit von Lab wurde gezeigt an Milch, welche während zwei Stunden bei Zimmertemperatur, gemischt mit der zu untersuchenden Flüssigkeit, geblieben war.

— Ersetzte ich die Salzlösung durch 0,4 proz. Salzsäure, so ließ sich beobachten, daß nach Verlauf von zwei bis drei Tagen im Innern der künstlichen Zelle ein voluminöser Niederschlag sich geformt hatte; in den folgenden 24 Stunden verschwand dieser Niederschlag immer wieder.

Fügte ich in vitro bei der Profermentlösung ein sehr geringes Quantum 0,4 proz. Salzsäure hinzu, so entstand ebenfalls stets ein Präcipitat, welches bei weiterer Säurezusetzung sich wieder löste.

Der Niederschlag im Dialysator war also ein Zeichen, daß Salzsäure in die Zelle hineingetreten war.

Offenbar war die Salzsäurewanderung in die Zelle hinein progressiv, denn nach Verlauf eines anderen Tages verschwand der Niederschlag wieder. Dieses Verhalten war gerade im Gegensatz mit dem bei den Experimenten mit Cholesterin-Membranen (b).

Schon am ersten Tage nach Beginn des Versuches war auch jetzt Pepsin deutlich nachweisbar; in den meisten Fällen war aber keine oder sehr träge Labwirkung zu beobachten.

Wir standen hier vor der Frage, ob es sich um eine Vernichtung des labenden Teiles des „Riesenmoleküls“ handelte, namentlich durch die Einwirkung entweder des Lecithins oder

der 0,4proz. Salzsäure, oder von beiden zusammen. Dazu wurden einzelne Kontrollproben ausgeführt.

1. 1 ccm Profermentlösung und Lecithin und 1 ccm 0,4proz. HCl. Nach 24 Stunden wurde auf Labwirkung geprüft. Diese war positiv, nicht geschwächt.
2. 1 ccm Profermentlösung und Lecithin. Nach 24 Stunden wurde auf Labwirkung geprüft. Diese war positiv (nach Zusetzung von 1 ccm 0,4proz. HCl).
3. 1 ccm Profermentlösung und 0,4proz. Salzsäure. Nach 24 Stunden wurde auf Labwirkung geprüft. Diese war positiv, nicht geschwächt.

Bei allen Kontrollproben wurde so weit verdünnt, als den Dialysatorproben entsprach.

Eine Vernichtung der Labfunktion unter dem Einflusse entweder des Lecithins oder der Salzsäure ergab sich also nicht.

Es könnte sich aber um eine größere Permeabilität der Lecithinhaut für das Propepsin handeln, um eine geringere für das Prochymosin. Mit dem wäre dann eine prinzipielle Trennbarkeit dieser beiden Profermente, der Meinung Glaeßners gemäß, ausgesprochen.

Doch ebenfalls ist es möglich, daß die Vernichtung oder die Schwächung der Labwirkung aus anderen, mir nicht deutlich gewordenen Ursachen zustande gekommen ist. War ja die Störung der milchkoagulierenden Eigenschaft unserer Profermentlösung eine nicht gleich große bei Anwendung der verschiedenen Lecithinpräparate: am stärksten war sie beim Ovolecithin-Merck.

Bemerkung: Es stellte sich heraus, daß das Propepsin schneller aus der Zelle heraus, als die Salzsäure in sie hineintrat, denn schon am ersten Tage konnte Pepsin in der Umgebung nachgewiesen werden, während zu dieser Zeit und auch am folgenden Tage keine Salzsäure mittels Günzburgs Reagens im Dialysator aufgefunden wurde.

b) Die Cholesterinproben wurden von mir in ähnlicher Weise ausgeführt, wie oben für die Versuche mittels Lecithinmembranen beschrieben.

Fand sich die mit der Profermentlösung gefüllte Zelle in einer Umgebung physiologischer Salzlösung, so waren erst nach Verlauf mehrerer Tage (2—3), beide Profermente in der den

Dialysator umspülenden Flüssigkeit nachweisbar. Nur war in diesem Falle das Prochymosin anscheinend eher nachweisbar als das Propepsin.

Ward die physiologische Salzlösung ersetzt von 0,4proz. Salzsäure, so wurde folgendes beobachtet:

Schon nach Verlauf eines Tages entstand im Dialysator ein voluminöser Niederschlag, zum Beweise der Eintretung von Salzsäure. Im Gegensatz mit demjenigen, das wir bei den Experimenten mit Lecithinmembranen geschehen sahen, waren jetzt in der umgebenden Flüssigkeit, aber sehr geringermaßen, beide Fermentwirkungen nachweisbar.

Außerdem verschwand der Niederschlag, selbst nach Verweilen der Zelle während mehrerer Tage in 0,4proz. Salzsäure, keineswegs; es wanderte also keine Säure mehr in die Zelle hinein.

Die peptonisierende Wirkung der den Dialysator (mit Cholesterinmembran) umgebenden salzsauren Flüssigkeit vermehrte sich, aber nicht dermaßen, wie die der den Lecithindialysator umspülenden.

c) Gemischte Lipoidmembrane erhielt ich in der Weise, daß ich die betreffenden Glasröhrchen in Lecithin-Cholesteringemengen wechselnder Zusammenstellung eintauchte.

Es stellte sich bei den Versuchen mit diesen gemischten Dialysatoren bald heraus, daß das Propepsin in eine Umgebung 0,4proz. Salzsäure, gleich wie in eine physiologischer Salzlösung schneller hinaustrat, je mehr Lecithin und weniger Cholesterin die permeable Membran enthielt.

Ein entgegengesetztes Verhalten des Prochymosins ließ sich nur zweifelhaft feststellen, wohl auch deswegen, weil die Labwirkung der Profermentlösung nach längerer Zeit sich allmählich verringerte.

Es kann sich bei dem Diffusionsprozeß der Profermente durch Lipoidmembrane um folgende Möglichkeiten handeln:

1. Die Permeabilität der Lipoidmembrane für Profermente kann eine Folge der Einwirkung des Alkalis sein, worin sich die Profermente gelöst befinden. Auch in den Drüsenzellen befinden sich die Profermente in alkalischer Lösung, sonst könnten sie nicht als solche bestehen. Es ist nicht undenkbar, daß auch eine Änderung des physikalischen oder chemischen Zustandes der Lipoidhaut dieser Zellen unter dem Einflusse vermehrter

oder verringerter Alkalescenz der Zellflüssigkeit, letztere wieder abhängig von der Alkalescenz des Blutes, bedingt wird.

2. In Übereinstimmung mit den Resultaten der Untersuchungen Dauwe's (s. o.) könnte man sich vorstellen, daß die Profermente (welche sich nach Glaeßner den Fermenten ähnlich verhalten) von den Kolloiden Lecithin und Cholesterin absorbiert werden. Es ist offenbar, daß jedenfalls das Cholesterin mehr Proferment absorbiert als das Lecithin, während letzteres das Proferment schneller wieder abgibt, wenigstens schneller in sich eindringen läßt.

3. Man könnte sich denken, daß die die Plasmahaut der Drüsenzellen zusammensetzenden Lipoide durch die Einwirkung intrazellulärer Fermente (z. B. Lipase) gespalten werden[1]), namentlich so, daß eine Spaltung des Lecithins ein Überwiegen der Cholesterinwirkung zur Folge hätte und das Hinaustreten der Profermente also verlangsamt würde.

Februar-Mai 1907.

---

[1]) Eine solche Annahme findet auch eine Stütze in den Versuchen von C. Neuberg und E. Rosenberg (Berl. klin. Wochenschr. 1907, Nr. 2) über Beziehungen zwischen Lipolyse, Agglutination und Hämolyse; ich verweise auf diese Arbeit auch deshalb noch, weil sich hier sehr deutlich die lipolytische Spaltung des Lecithins bei der durch manche Gifte bewirkten Hämolyse herausgestellt hat und weil hierdurch auch die Frage nach der Spezifität der Enzyme berührt wird.

Über das Verhalten des Calciums im Blute bei experimenteller Säurevergiftung.

Von

R. A. Allers und S. Bondi.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Allgemeinen Poliklinik in Wien [Vorstand: Prof. J. Mauthner].)

(Eingegangen am 15. September 1907.)

Die Lehre von der Säurevergiftung erblickt die eingreifendste Wirkung der Säure auf den Organismus in dem Unvermögen des Blutes, genügende Mengen Kohlensäure aus den Geweben aufzunehmen[1]). Es ist jedoch wahrscheinlich, daß dieser Umstand nur eine bedeutsame, aber nicht die einzige Ursache im Bilde der Säurevergiftung ist. Die im Körper entstehende oder in ihn eingeführte Säure wird zum Teil durch anorganische Basen neutralisiert. Diese bilden im dissoziierten Zustande Kationen, welche eine hervorragende, biologische Rolle spielen. Das geht aus zahlreichen experimentellen Arbeiten früherer und besonders letzterer Zeit hervor. Wir erinnern hier nur an Langendorffs[2]) Arbeiten über die Einwirkung gewisser Kationen auf das überlebende Säugetierherz, ferner an die Arbeiten von J. Löb[3]). Den einzelnen Kationen fällt danach eine bestimmte spezifische Wirkung zu, die sich je nach der Art des Kations bald hemmend, bald reizend auf verschiedene Lebensvorgänge geltend macht. Durch die gleichzeitige Anwesenheit verschiedener Kationen entstehen Gleichgewichtszustände, deren Bestehen für das physiologische Geschehen von ebenso großer Bedeutung ist, wie die Anwesenheit anorganischer Basen überhaupt.

---

[1]) **Walter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 7, 148, 1877.**
[2]) **Langendorff, Ergebn. d. Physiol. hrg. von Asher-Spiro.**
[3]) **J. Löb, Die Dynamik der Lebenserscheinungen, 1906.**

Daß die Säurevergiftung in diese Verhältnisse schädigend eingreifen kann, ist nicht zu bezweifeln.

So ist es möglich, daß dem Körper oder einzelnen Organen Basen entzogen werden, sodaß diese überhaupt an Basen verarmen, ferner können die Gleichgewichte gestört werden, welche zwischen den einzelnen Kationen bestehen, indem die Säure mehr von einer Base entführt als von einer andern. Es wird dann die Wirkung der andern Kationen stärker hervortreten, was mit einer Änderung des physiologischen Funktionierens des betreffenden Organes verbunden sein muß. Schließlich können beide Möglichkeiten auch kombiniert auftreten.

Die Frage, ob der Organismus bei der Säurevergiftung an Basen verarmt, ist noch nicht endgültig entschieden trotz der vielen Arbeiten, welche sich mit dem Aschenstoffwechsel bei der Säurevergiftung befaßten. Zusammenfassend kann man mit v. Noorden[1]) sagen, wenigstens bei der diabetischen Acidosis, daß es noch nicht sicher feststeht, ob eine Basenverarmung stattfindet. „Alkaliverarmung im Verhältnis zur ganzen Körpersubstanz ist nicht nachzuweisen". Es ist jedoch seit langer Zeit bekannt, daß große Mengen von Basen, besonders Kalk und Magnesia, ausgeschieden werden. Wir verweisen auf die wichtigen Untersuchungen von E. Salkowski[2]) bei der experimentellen, von Gerhardt und Schlesinger[3]) bei der autotoxischen Säurevergiftung.

Die Frage jedoch, ob die zwischen den Kationen bestehenden Gleichgewichte durch die Säurevergiftung geändert werden können, wurde noch kaum aufgeworfen. Hierzu scheint uns auch die bisher vorwiegend geübte Art, die Asche der Ausscheidungen zu prüfen, weniger von Bedeutung. Viel wichtiger ist es hier, direkt die Asche der Organe und des Blutes auf Gehalt und Natur der Basen zu untersuchen und die Bestimmungen an normalen und säurevergifteten Tieren miteinander zu vergleichen.

Allerdings kann die Untersuchung der Aschen in der angedeuteten Richtung kein ganz vollkommenes Bild von Änderungen

---

1) v. Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. 2, 85, 1907.

2) E. Salkowski, Virchows Archiv 58, 1873 (daselbst die ältere Lit.).

3) Gerhardt und Schlesinger, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharm. 42, 1899.

im Bestande der Kationen geben, da ja dissoziierte und nichtdissoziierte Basenverbindungen dabei in einem bestimmt werden. Da aber die Methoden zur Trennung der Basen in dieser Art noch wenig vollkommen sind, andererseits eintretende Änderungen bei der Säurevergiftung in bedeutenderem Maße wohl die dissoziierten Salze treffen, so kann man vorläufig dieser Frage durch Untersuchen des Aschengehaltes näher treten.

In dieser Arbeit haben wir aus mehrfachen Gründen nur das Blut untersucht. Das Blut enthält die Hauptmasse seiner anorganischen Bestandteile als Salze, also in dissoziierbarer Form. Eintretende Änderungen sind als Störungen für den ganzen Organismus von Bedeutung. Das Blut enthält auch die wichtigsten Nähr- und Abfallstoffe aller übrigen Organe. Änderungen im Blute lassen daher auf bestimmte Änderungen in den Geweben schließen.

Innerhalb der Basen in der Blutasche haben wir das Calcium in den Kreis unserer Untersuchung gezogen. Trotz der eingehenden Beachtung, welche die Kalkausscheidung bei Säurevergiftung gefunden hat, wurden die Änderungen im Kalkgehalt des Blutes bei experimenteller Säurevergiftung bisher nicht untersucht. Dem Calcium als Ion kommt aber eine besonders hohe biologische Bedeutung zu.

Langendorff[1]) sah überlebende Säugetierherzen bald absterben, wenn das Calcium in der Durchströmungsflüssigkeit fehlte. In zahllosen Experimenten von J. Löb, Höber, Overton und anderen erwies sich das Calcium als überaus bedeutsam. So wird die Giftwirkung des Kalium- und Natriumions auf den Lebensprozeß der Zelle durch das Calcium wie durch ein Antitoxin gehemmt oder aufgehoben[2]). Lange bekannt ist auch die Rolle des Calciums bei der Blutgerinnung. Es war auch festzustellen, ob die beobachtete Verzögerung in der Gerinnung des Blutes von Salzsäure vergifteter Tiere sich aus Änderungen im Calciumgehalte erklärt.

Zum Schlusse wurde die Änderung des Gehaltes des Blutes an anorganischen Basen bei der Säurevergiftung bestimmt. Denn aus dem Verhältnis der Verschiebung der Gesamtbasenwerte zu der

---

[1]) Langendorff, Ergebn. d. Physiol. hrg. von Asher-Spiro.

[2]) E. Fuld, Klin. ther. Wochenschr. 1907. Auch übersichtliche Zusammenstellung der Literatur.

Höhe der Veränderungen des Calciums konnten wir bestimmte Antworten auf die gestellten Fragen erwarten.

Methodik.

Die Kaninchen wurden mindestens 4—6 Tage vor dem Versuche bei konstanter Nahrung (bestehend aus Hafer, etwas Brot und wenig Grünfutter) erhalten. Die Säure erhielten sie mittels der Schlundsonde und zwar $^2/_3$ der seinerzeit von Walter verabfolgten Menge ($^1/_{10}$ des Körpergewichtes an $^n/_4$ Salzsäure), in 2 Portionen mit 12 Stunden Intervall. Gab man dem Tiere noch eine Portion, so verfielen sie in Koma und waren schlecht zu verbluten. Die Tiere, die nur 2 Portionen Säure erhalten hatten, wiesen außer vielleicht etwas beschleunigter Atmung und Trägheit keinerlei Symptome auf. Etwa 5 Stunden nach der zweiten Portion wurden die Tiere aus der Carotis mittels einer Glaskanüle in einen gewogenen, großen Rundkolben aus Jenaer Glas entblutet. Das Blut wurde in dem gleichen Kolben gewogen und nach Neumann verascht, die Schwefelsäure auf der Platinschale abgeraucht und der Rückstand mit verdünnter Salzsäure mehrere Stunden am Wasserbade belassen. Nach Filtration von den unlöslichen Silicaten (die, wie übrigens immer auch Spuren von Kupfer, aus dem Jenakolben in Lösung gingen), wurden die Phosphate abgeschieden und im Filtrat das Calcium in üblicher Weise als Oxalat gefällt und als CaO gewogen.

Wir berechnen in den Tabellen die Menge CaO auf 1000 Gewichtsteile Blut wie Abderhalden[1]) und als Ion Ca auf 1000 Teile, wie es Dennstedt vorgeschlagen.

Die Summe der anorganischen Basen in der Blutasche wurde als Kontrollsulfat bestimmt. Das Blut wurde in gewogenen Tiegeln am Wasserbad zum Trocknen verdampft und über sehr kleiner Flamme vorsichtig verascht. Die Asche wurde dreimal mit Schwefelsäure abgeraucht und gewogen, es wurde mit verdünnter Salzsäure aufgenommen, längere Zeit erwärmt, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und in aliquoten Teilen die Schwefel- und Phosphorsäure gewichtsanalytisch bestimmt. In den Belegen bedeutet Gesamtsulfat das Gewicht des Rückstandes nach dem Abrauchen.

---

1) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem., 25.

Versuche:

Für das normale Kaninchenblut fand Abderhalden einen Durchschnittswert von 0,072 CaO in 1000 g Blut. Unsere Zahlen stimmen mit dieser Angabe gut überein. Unsere Werte bewegen sich zwischen 0,050 g und 0,076 g CaO in 1000 g Blut. Infolge des geringen Calciumgehaltes, der sich im Versuche 4 (siehe Tabelle I) ergab, ist unser Durchschnittswert 0,069 g CaO.

Dagegen zeigte das Blut der mit Säure vergifteten Tiere einen erheblich höheren Calciumgehalt. Nur in Versuch 3 (Tabelle II) finden wir eine Zahl, die als normaler Calciumwert zu bezeichnen ist, nämlich 0,076 g. Bei diesem Tiere war aus äußeren Gründen die Verblutung sehr bald nach Verabfolgung der zweiten Säureportion vorgenommen worden, und fand sich im Magen eine große Menge von Säure vor. Es ist hier offenbar noch gar nicht zur Acidosis gekommen und dieser Versuch aus der Berechnung der Mittelzahl auszuscheiden.

Die übrigen fünf, mit Säure vergifteten Kaninchen wiesen einen Calciumwert von 0,095—0,260 g auf. Der Durchschnittswert bei den vergifteten Tieren ist 0,159 g in 1000 g Blut.

Wir sehen also, daß im Blut des säurevergifteten Kaninchens der Gehalt an Calcium auf mehr als den doppelten Wert erhöht ist. Wollte man annehmen, daß alle anorganischen Basen in gleicher Weise herangezogen werden, um die im Blute kreisende Säure zu binden, so müßte der Basenwert im Blute gleichfalls sich verdoppeln. Es entstünde so ein sehr hoher Aschengehalt, was a priori unwahrscheinlich ist. Eher war an die Möglichkeit zu denken, daß es sich um eine elektive Vermehrung nur des Calciums handelt, wohin ja auch die oben angeführten Befunde von vermehrter Calciumausscheidung bei Diabetes usw. wiesen.

Berechnet man aus den Blutanalysen Abderhaldens die Summe der Kationen in 1000 Teilen Blut, so kommt man zur Zahl 4,326.

Wenn das Verhältnis vom Calcium zu den übrigen Basen bei der Säurevergiftung dasselbe wäre wie normal, d. h. wenn alle Basen gleichmäßig zur Deckung des Bedarfes herangezogen würden, so müßte gerechnet auf Grund des Durchschnittswertes von 0,159 CaO die Summe der Basen in 1000 Teilen Blut 9,38 betragen. Aus unsern Kontrollsulfatbestimmungen berechnet sich indes der Wert von 4,87 (Mittel). Die Vermehrung der Ge-

samtbasen beträgt gegenüber der Norm demnach ca 11%, was wahrscheinlich noch fast innerhalb der Grenzen der physiologischen Schwankungen fällt.

Fassen wir die Resultate unserer Untersuchungen kurz zusammen, so ergibt sich, daß die Calciumwerte des Blutes bei der experimentellen Säurevergiftung sich fast um 100% erhöhen, während die Gesamtbasen des Blutes nur eine Steigerung von ca. 11% erfahren.

Die eingangs erörterten Fragen beantworten sich daher in folgender Weise.

Eine Basenverarmung findet im Blute nicht statt, es erfahren dieselben sogar eine leichte Vermehrung. Hingegen zeigt es sich evident, daß durch die Säurevergiftung die zwischen den Kationen bestehenden Gleichgewichte Änderungen erfahren, in unserm Falle zugunsten des Calciums. Letzteres wird um ein vielfaches vermehrt im Gegensatz zu der Gesamtheit der übrigen Basen.

Nebenbei sei noch angeführt, daß infolge der Vermehrung des Calciums letzteres nicht als Ursache der verzögerten Blutgerinnung figuriert.

Die mitgeteilten Untersuchungen legen den Gedanken nahe, ob die einseitige Vermehrung des Calciums im Blute, welcher voraussichtlich auch eine Vermehrung des Magnesiums parallel geht, zur Erklärung des Säurekomas herangezogen werden kann.

Bekanntlich wiesen J. Löb, Melzer und andere nach, daß Calcium und Magnesium als Kationen in bestimmten Konzentrationen auf die physiologischen Vorgänge im Nervensystem und in der Muskelsubstanz nach Art eines für diese Organsysteme spezifischen Giftes einwirken.

Wir wollen untersuchen, ob weitere Experimente diese Annahme stützen.

Tabelle I.

Normale Tiere

Versuchs-Nr.	Gewicht des Tieres	Blutmenge	Gewogenes CaO	In 1000 Teilen	
				CaO	Ca
1	2517	61,2002	0,0045	0,073	0,052
2	1875	51,8809	0,0039	0,075	0,054
3	1403	43,4481	0,0031	0,071	0,051
4	2008	95,4677	0,0048	0,050	0,036
5	2730	82,9027	0,0063	0,076	0,054

Tabelle II.

Vergiftete Tiere

Versuchs-Nr.	Verabreichte n/4 Salzsäure	Tiergewicht	Blutmenge	Gewogenes CaO	In 1000 Teilen CaO	In 1000 Teilen Ca	Bemerkung
1	2 × 70 ccm	2045	51,6776	0,0073	0,142	0,101	Wegen Koma rasch verblutet
2	2 × 100 ccm	3070	96,9443	0,0145	0,149	0,106	
3	2 × 75 ccm	2230	72,5497	0,0055	0,076	0,054	Viel Säure im Magen
4	2 × 50 ccm	1478	56,9146	0,0148	0,260	0,186	
5	2 × 80 ccm	1890	52,5579	0,0080	0,152	0,109	
6	2 × 72 ccm	2213	76,4983	0,0073	0,095	0,068	

Bestimmung der Gesamtbasen.

A) Tiergewicht 1170 g erhält 2 × 40 ccm. n/4 Salzsäure.

1) Blutmenge 16,8243 g
Gesamtsulfat 0,1858 g = 1,10%
aufgefüllt auf 200 ccm

in 100 ccm 0,1020 $BaSO_4$ = 0,0419 SO_4
in 100 ccm 0,0145 $Mg_2P_2O_7$ = 0,0092 P_2O_5

Basensumme 0,0836 g, in 1000 Teilen **4,97** g.

2. Blutmenge 19,855 g
Gesamtsulfat 0,2153 = 1,08% [Bestimmung geht verloren].

B) Tiergewicht: 1300 g erhält 2 × 45 ccm n/4 Salzsäure.

1. Blutmenge 18,0809 g
Gesamtsulfat 0,1916 g = 1,06%
aufgefüllt auf 200 ccm

in 100 ccm 0,1053 $BaSO_4$ = 0,0433 SO_4
in 100 ccm 0,0150 Mg_2PO_7 = 0,0096 P_2O_5

Basensumme 0,0858 g, in 1000 Teilen **4,75** g.

2. Blutmenge 21,5700 g
Gesamtsulfat 0,2265 = 1,05%
aufgefüllt auf 200 ccm

in 100 ccm 0,1245 $BaSO_4$ = 0,0512 SO_4
in 100 ccm 0,0176 Mg_2PO_7 = 0,0112 P_2O_5

Basensumme: 0,1017 g, in 1000 Teilen **4,72** g.

Nochmals über das Phylloxanthin.

Von

M. Tswett.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Warschau.)

(Eingegangen am 15. September 1907.)

Meine an dieser Stelle[1]) vor kurzem erschienene Abhandlung über die Chlorophyllinderivate hat kurz darauf eine kritische Notiz Marchlewskis hervorgerufen[2]), welche ich, im Interesse einer prompten Klärung der schwebenden Fragen, nicht unbeantwortet lassen kann. Ich werde mich dabei begnügen, den einzigen sachlichen Einwand[3]) einer näheren Beleuchtung zu unterwerfen. In meiner zitierten Abhandlung habe ich mitgeteilt, daß Schuncks Phylloxanthin und Phyllocyanin nicht die Spaltungsprodukte einer und derselben Substanz (der vermeintlichen „grünen Komponente" des Blattgrüns), sondern die korrespondierenden Abkömmlinge der zwei fluorescierenden Teilfarbstoffe des Chlorphylls, (der Chlorophylline) sind, welche von Stokes und Sorby entdeckt, zuerst von mir in optisch reinem Zustande und in größeren Mengen dargestellt und untersucht worden sind[4]). Ich habe weiter an der Hand des Experiments erörtert, daß die Annahme einer Umwandelbarkeit des Phylloxanthins in Phyllocyanin des zureichenden Grundes entbehrt.

Gegen letzteres erhebt sich Marchlewski und behauptet, daß ich reines Phylloxanthin unter den Händen nicht gehabt habe, da dasselbe nicht das von mir für Chlorophyllan β gegebene Spektrum besitzt.

Es ist zuerst befremdend, von „reinem Phylloxanthin"

---

[1]) Diese Zeitschr. **5**, 6, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. **5**, 344, 1907.

[3]) Als charakteristisch für die Art Marchlewskis, wissenschaftliche Kritik zu üben, sei angeführt, daß er meine ausgearbeitete adsorptionsanalytische Methoden als „einen Filtrationsversuch" bezeichnet hat, „mit Hilfe dessen man sich nicht auf die Höhe eines Reformators der Chlorophyllchemie schwingen kann". (Ber. d. deutsch. bot. Ges., **25**, 227, 1907.)

[4]) Über die von Marchlewski gegen meine Chlorophyllinspektren erhobenen Zweifel (Ber. d. deutsch. bot. Ges. **25**, 226—227, 1907), vgl. meine Ausführungen ebenda **25**, 141, 148 und 394—395, 1907.

sprechen zu hören. Das von E. Schunck und Marchlewski als Phylloxanthin bezeichnete Präparat ist nämlich, wie die Autoren selbst bewiesen haben[1]), kein chemisches Individuum. Es wurden darin Fette nachgewiesen. Was die optische Reinheit des Phylloxanthins betrifft, so ist sie eine hypothetische geblieben. Der Darstellung nach ist man berechtigt, in dem Präparate Beimischung von gelben Farbstoffen (zersetztes Carotin) zu vermuten[2]). Außerdem ist die vollständige Abwesenheit im gereinigten Phylloxanthin des „Phyllocyanins" nicht bewiesen worden. Die in dieser Hinsicht von Schunck und Marchlewski verwendeten Kriterien[3]) sind nicht entscheidend.

Als ersteres wird angegeben, daß, wenn man die ätherische Lösung des Phylloxanthins mit konzentrierter Salzsäure (spez. Gew. ?) zusammenbringt, diese letzte nach kurzem Zusammenschütteln farblos bleibt. Wir haben aber gesehen[4]), daß das Chlorophyllan α (die Muttersubstanz des Phyllocyanins) selbst aus seiner reinen ätherischen Lösung durch konzentrierte Salzsäure (spez. Gew. 1,15) nicht quantitativ aufgenommen wird und nach wiederholter Ausschüttelung eine fast farblose Säurephase liefert. Augenscheinlich spaltet sich das Chlorophyllan unter Einfluß der Säure in Farbstoffe von verschiedener Basizität (Willstätters Phytochlorine und Phytorhodine). Als zweites Kriterium der Reinheit des Phylloxanthins soll die gute Abgrenzung aller Spektralbänder dienen, besonders des vierten, „was ein Zeichen der absoluten Abwesenheit des Phyllocyanins ist". Dazu ist zu bemerken, daß aus der genannten guten Abgrenzung des vierten Bandes wohl auf das starke Zurücktreten, keineswegs aber auf die absolute Abwesenheit eines das Spektrum des Phyllocyanins besitzenden Körpers geschlossen werden kann. Aus alledem ist ersichtlich, daß wir nicht berechtigt sind, das

---

[1]) Liebiegs Annal. 278, 334. Gleichfalls behauptet Marchlewski in seinem Artikel Chlorophyll des Roskoe-Schorlemmer Lehrbuches (VIII, 854), er sei mit C. A. Schunck zuerst imstande gewesen, das „Allochlorophyll" (Chlorophyllin β) frei von gelben Farbstoffen zu erhalten, während in seiner betreffenden Arbeit geradezu das Gegenteil bewiesen wird und überhaupt von dem Spektrum des Farbstoffes nur ein schmales Band im Rot erkannt wird. (Vgl. Ber d. deutsch bot. Ges. 24, 535; 25, 73.)

[2]) Vgl. meine Befunde: diese Zeitschr. 5, 22—23, 1907.

[3]) Liebigs Annal. 284, 101.

[4]) Diese Zeitschr. 5, 16, 1907.

Phylloxanthin als ein optisch, geschweige chemisch reines Präparat zu betrachten. Eine Analyse desselben mittels meiner Adsorptionsmethode wird voraussichtlich das Gegenteil beweisen. Bezeichnen wir aber als Phylloxanthin den vermutlichen Hauptfarbstoff des sobenannten Präparates, so folgt aus meinen Untersuchungen, daß dasselbe ein Abkömmling des Chlorophyllins β bzw. des Chlorophyllans β ist, und vielleicht mit diesem letzten identisch ist. Über diese Identität habe ich mich vorsichtig ausgesprochen (l. c. 22, 27), ich kann aber nicht Marchlewski beistimmen, wenn er dieselbe auf Grund der spektroskopischen Vergleichung der Präparate leugnet.

Der Vergleich muß mit kritischem Sinn geführt werden, weil einerseits Phylloxanthin kein reines Präparat ist, und zweitens besitzen wir über sein Spektrum nur dürftige Angaben. Ein einziges für eine „mittlere Konzentration" bestimmtes Spektralbild kann bekanntlich für die Charakterisierung eines Stoffs nicht ausreichen.

Mit dem von Schunck und Marchlewski mitgeteilten Spektrum des Phylloxanthins[1]) ist am besten das für die als 16 x bezeichnete Konzentration des Chlorophyllans β von mir bestimmte Spektrum[2]) zu vergleichen. Dabei ist nicht zu vergessen, daß die Bestimmungen nicht nur von verschiedenen Beobachtern stammen, sondern unter Anwendung verschiedener Apparate und wahrscheinlich verschiedener Beleuchtung ausgeführt worden sind.[3])

	Chlorophyllan β (ätherische Lösung)	Phylloxanthin (ätherische Lösung)
I.	640—670 μμ	640—685 μμ
II.	622—628 „	—
III.	590—610 „	590—614 „
IV.	551—565 „	553—569 „
V. u. VI.	513—540 „	513—542 „
VII.	480—490 „	—
	Endabsorption von 465 ab	von 473 ab
	Intensitätsskala I > (V u. VI) > III = IV > VII > II	Intensitätsskala (die Bänder werden hier wie die entsprechenden des Chlorophyllans β numeriert) I > (V u. VI) > III > IV

---

[1]) Liebiegs Annal. **284**, 101, 1895.

[2]) Ber. d. deutsch. bot. Ges. **25**, 147 und diese Zeitschr. **5**, 14, 1907.

[3]) Ich arbeite mit dem für solche Untersuchungen so vortrefflichen lichtstarken Zeißschen Spektralokular.

Das gegebene Spektrum des Phylloxanthins unterscheidet sich demnach von dem des Chlorophyllans β hauptsächlich durch das Fehlen der Bänder II und VII, sowie durch die weiter nach dem Ultrarot reichenden linken Grenzen der Bänder I, III und der Endabsorption. Sonst könnte die Übereinstimmung der beiden Spektren als eine befriedigende bezeichnet werden. Nun ist es aber sehr möglich, daß die Bänder II und VII beim Phylloxanthin nur übersehen worden sind, einerseits weil sie sehr schwach sind, andererseits weil das VII. Band in eine Region fällt, welche infolge wahrscheinlicher Verunreinigung des Präparates durch „Phyllocyanin" und gelbe Farbstoffe etwas verschleiert sein kann. Um sich über das Fehlen der genannten Bänder definitiv auszusprechen, wäre es nötig, „Phylloxanthin" einer erneuten und gründlichen spektroskopischen Untersuchung mittels des Zeißschen Spektralokulares zu unterwerfen, wobei die sonst von mir eingehaltenen Kautelen (Beleuchtung, Arbeiten mit hohem Spektrum)[1]) zu berücksichtigen wären. Übrigens habe ich diese Bänder, sowie die Bänder II und VII des Chlorophyllans α auch in den mittels des Frémyschen Verfahrens zu erhaltenden Phylloxanthin bzw. Phyllocyanin[2]) wiedergefunden, während die früheren Autoren ihrer keine Erwähnung tun.

Was die geringere Ausdehnung nach dem Ultrarot der Bänder I und III des Chlorophyllans β im Vergleich mit den entsprechenden Bändern des Phylloxanthins betrifft, so könnte sie sich ungezwungen durch die mutmaßliche Anwesenheit im letzteren Präparate von einem das Spektrum des „Phyllocyanins" besitzenden Körper erklären, dessen entsprechende Bänder tatsächlich nach links vorgerückt sind. Beimischung von gelben Farbstoffen würde endlich Rechenschaft von der im Vergleich mit Chlorophyllan β früher einsetzenden Endabsorption des Phylloxanthins geben.

Aus dem spektroskopischen Vergleich läßt sich also kein bestimmter Beweis dafür entnehmen, daß die konkreten Phyllo-

---

[1]) Ber. d. deutsch. bot. Ges. **25**, 140, 1907. Wie ich gefunden habe, sind bei Betrachtung hoher (mit langem Spalte hergestellter) Spektren schwache Absorptionsbänder unterscheidbar, welche im niedrigeren Spektrum dem Auge vollständig entgehen. Der Grund dieser der psychophysischen Betrachtung angehörenden Erscheinung ist mir nicht bekannt.

[2]) Diese Zeitschr. **5**, 21, 1907.

xanthinpräparate etwas wesentlich vom Chlorophyllan β Verschiedenes sind und nicht nur dasselbe in optisch und chemisch unreinem Zustande darstellen. Nichtsdestoweniger ist es sehr möglich, daß Schuncks Phylloxanthin, welches nachweislich vom Chlorophyllin β bzw. vom Chlorophyllan β stammt, infolge der Darstellungsweise (wiederholtes „Umkrystallisieren" aus heißem Eisessig) mit diesem letzten nicht mehr identisch ist. Daß die Veränderung aber derart sei, daß der Farbstoff sich nunmehr bei Auflösung in Salzsäure in „Phyllocyanin" verwandelt — was Chlorophyllan β, wie ich bewiesen habe, nicht vermag[1]) — das erscheint jetzt als eine Hypothese, welche erst zu beweisen wäre und zugunsten welcher keine Tatsachen mehr sprechen[2]).

Übrigens, nachdem Willstätter in überzeugender Weise gezeigt hat[3]), wie viel verschiedene und labile Abbauprodukte das „Chlorophyll" (die Chlorophylline) unter Einlluß der starken Säuren liefert, dürften Phylloxanthin und Phyllocyanin, wenigstens das letztere, als erwiesene Sammelbegriffe nur mehr historisches Interesse darbieten.

Den Bemühungen Marchlewskis, dem Leser zu versichern, daß meine Chlorophyllforschungen nur neue Namen bringen, glaube ich nicht entgegentreten zu brauchen. Jeder aufmerksame Leser hat wohl eingesehen, daß es sich nicht um neue Namen, sondern um neue Tatsachen handelt, entgegen welchen das bisherige Gebäude der Chlorophyllchemie nicht ohne gründliche Umänderung bestehen kann. Tief erschüttert wird anderseits dieses Gebäude durch die bedeutungsvollen Untersuchungen Willstätters und seiner Mitarbeiter, und mit vollem Recht betont dieser Gelehrte[4]), daß die annähernde Erkenntnis eines weitstehenden Abbauproduktes — des Phylloporphyrins — uns noch sehr wenig über die Natur des allein allgemeines Interesse beanspruchenden nativen Stammstoffes unterrichtet und zu keinen weitgehenden Spekulationen berechtigt. Übrigens kann es nicht zu oft wiederholt werden, daß — entgegen der noch all-

---

[1]) Diese Zeitschr. 5, 18, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. 5, 23, 30, 1907.

[3]) Liebigs Annal. 350, 8, 1906; 354, 230, 1907.

[4]) R. Willstätter, Verhandl. d. Ges. d. Naturf. u. Ärzte, 78. Versamml. 1906, II. Teil, 123—126.

gemein herrschenden Meinung[1]) — es keine „grüne Komponenten" des Blattgrüns, „Chlorophyll" in der bisher üblichen Fassung gibt, sondern daß zwei Chlorophylline den fluorescierenden Anteil des Blattpigmentes ausmachen, von welchen das minder reichlich vorhandene etwa den fünften Teil des anderen ausmacht und eine wichtige Rolle in der Lichtabsorption des Gesamtfarbstoffes spielt[2]). Es ist deswegen die Frage aufzuwerfen, ob es nicht zwei Phylloxanthine und zwei Phylloporphyrine gibt.

---

[1]) Daß dies der Fall ist, bezeugen z. B. E. Stahl, Laubfarbe und Himmellicht (Naturw. Rundsch. 21, 289, 1906) und F. Kohl, Kohlensäureassimilation und Chlorophyllfunktion (Ber. d. deutsch. bot. Ges., 24, 40, 42, 1906).

[2]) M. Tswett, über die Spektrophotometrie der Chlorophylline und die Energetik des Chlorophylls. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 25, 388, 1907.)

Ultrafiltration.

Von

H. Bechhold,[1])

Mitglied des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie.

(Eingegangen am 20. September 1907.)

Viele theoretische Gründe hatten bereits dafür gesprochen, daß die kolloiden Lösungen den Suspensionen näher stehen, als den sog. echten Lösungen. Siedentopf und Zsigmondy brachten für einen Teil derselben den überzeugenden Beweis von der Richtigkeit dieser Annahme, indem sie vermittels ihres Ultramikroskops eine Reihe von Hydrosolen dem Auge als regelrechte Suspensionen sichtbar machten. — Nachdem man zu dieser Erkenntnis gelangt war, schien es mir nicht mehr zweifelhaft, daß es mittels geeigneter Filter auch gelingen mußte, kolloidal gelöste Stoffe von ihrem Lösungsmittel zu trennen, ja vielleicht sogar Mischungen von Kolloiden verschiedener Teilchengröße voneinander gewissermaßen zu sieben.

Eine solche Scheidung war zunächst nur zu erwarten bei Teilchen, die sich in ihren Massen recht erheblich unterschieden, denn für die Filtrierbarkeit in dem soeben angedeuteten Sinn ist der Durchmesser der Teilchen maßgebend, der nur in der dritten Wurzel der Masse zunimmt; damit der Durchmesser sich verdoppelt, muß sich die Masse verachtfachen. Vorausgesetzt ist hierbei kugelförmige bzw. kubische Gestalt, eine Annahme, die sicher in den meisten Fällen nicht zutrifft, die wir aber doch zugrunde legen müssen, da wir über die wahre Gestalt solch kleiner Teilchen, die bereits in das Gebiet der Molekulardimensionen reichen, vorderhand nichts wissen.

---

[1]) Gerne folge ich der Aufforderung der Redaktion und teile hier die wesentlichsten Ergebnisse meiner Studien über Kolloidfiltration mit, zumal ich glaube, daß die Methode gerade dem Biochemiker ein neues brauchbares Hilfsmittel an die Hand gibt. — Die ausführliche Veröffentlichung findet sich in der „Zeitschr. f. physikal. Chem." 60, 257—318, 1907. „Kolloidstudien und Filtrationsmethode". (Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie, Direktor Geh. Med.-Rat Professor Dr. P. Ehrlich.) D. Verf.

Als ganz treffliches Filtermaterial erwiesen sich mir Gallerten (Kollodium, Eisessigkollodium, gehärtete Gelatine), bei denen es möglich war, durch Abänderung der Konzentration jede gewünschte Filterdichte und damit recht feine Abstufungen zu erzielen. Je nach der Filterdichte bedarf es zur Filtration eines Überdrucks von 0,2 bis 5 oder 6 Atmosphären.

Um von vornherein Mißverständnisse auszuschließen, sei vorausgeschickt, daß solche Gallertfilter in der Art eines Siebes wirken können, daß indessen von Fall zu Fall Komplikationen eintreten können, welche die reine Siebwirkung verwischen. Die einfachste Komplikation ist die, daß die zu filtrierende Substanz selbst vom Filtermaterial adsorbiert wird, wie wir es z. B. beim Arachnolysin sehen werden; eine andere Möglichkeit ist, daß ein für den Hydrosolzustand wesentlicher Bestandteil der Lösung, z. B. ein Elektrolyt, von dem Filtermaterial adsorbiert oder durch Abfließen als Filtrat entfernt wird. Dadurch kann ein Hydrosol versteckt oder offen in den Gelzustand übergehen bzw. ausflocken und eine größere Teilchengröße vortäuschen, als ihm vorher im Hydrosolzustand zukam; als einfachstes Beispiel sei das Globulin mit Kochsalz gelöst angeführt, das ausflockt, sobald man die Kochsalzlösung durch Filtration entfernt. Schließlich sei auch des Falls gedacht, wo die Teilchen einer kolloiden Lösung klein genug wären, durch ein bestimmtes Filter zu passieren, durch Gegenwart einer anderen kolloiden Substanz aber adsorbiert und dadurch gehindert werden zu filtrieren, z. B. eine geeignete Mischung von kolloidem Berlinerblau und kolloidem Arsensulfid. — Wahrscheinlich werden auch die Filterporen durch Gegenwart bestimmter Elektrolyte und Nichtelektrolyte in ihrer Durchlässigkeit beeinflußt. In einer früheren Arbeit [1]) wurde dies für die Diffusion in Gallerten bewiesen und einige Fälle sprechen auch für diesen Einfluß bei der Filtration.

Glücklicherweise ist man meist in der Lage, durch einige Vorproben oder durch quantitatives Arbeiten sich von eventuellen Nebeneinflüssen zu überzeugen, so daß ein Irrtum in der Beurteilung des Resultats fast ausgeschlossen ist. Findet man z. B., daß eine Substanz, welche man durch Filtration vom Lösungsmittel trennen will, sich nicht in dem Maß im Trichter konzentriert, als das reine Lösungsmittel abfließt, so ist es klar, daß das Filter

[1]) Bechhold u. Ziegler, Die Beeinflußbarkeit der Diffusion in Gallerten. Zeitschr. für physikal. Chem. **56**, 105—121.

adsorbierend wirkt. Ist die Substanz gar auf dem Filter ausgeflockt, so bedarf es nur eines Schüttelversuchs um zu konstatieren, ob das Filtermaterial als solches ausflockend wirkt. Es erübrigt hier, auf Einzelfälle einzugehen, da jeder leicht in der Lage sein wird, das Richtige zu treffen.

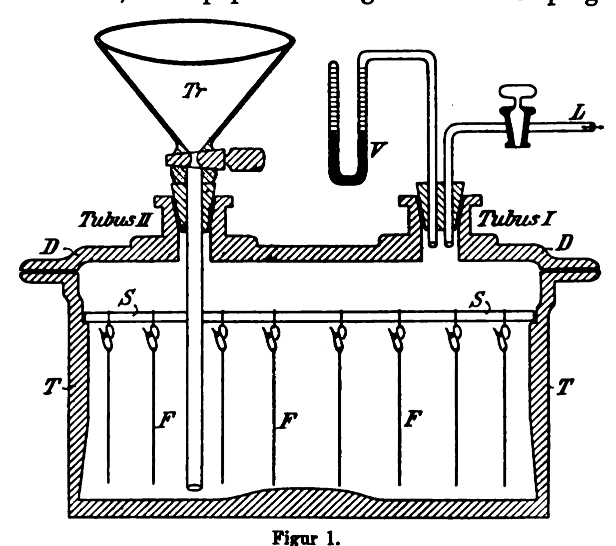
Gerade diese Vielseitigkeit der Ultrafilter macht sie zu einem Hilfsmittel, das die Möglichkeit der Lösung verschiedenartiger Probleme in Aussicht stellt und vielleicht gerade dem Biochemiker willkommen sein wird.

Bevor wir zu einigen Anwendungen übergehen, seien Apparat und Filter hier kurz geschildert.

Das Ultrafilter und der Filtrationsapparat.

Um der Gallerte einen Halt zu geben, empfiehlt es sich in den meisten Fällen Gewebe, Filterpapier oder dgl. damit zu imprägnieren. Am praktischsten erwies sich starkes rauhes Filterpapier.

Taucht man dasselbe in die Gallertlösung, so bleiben häufig Luftblasen zurück, und die Gallerte bildet unter Umständen nach dem Gelatinieren nur eine leicht verletzbare äußere Haut, so daß viele Filter unbrauchbar sind. Um diesem Übelstande zu begegnen, habe ich später für wissenschaftliche Zwecke die Filter im Vakuum imprägniert. Ich benutze dazu einen Apparat[1]) (Fig. 1). Auf dem rechteckigen Glastrog *T*

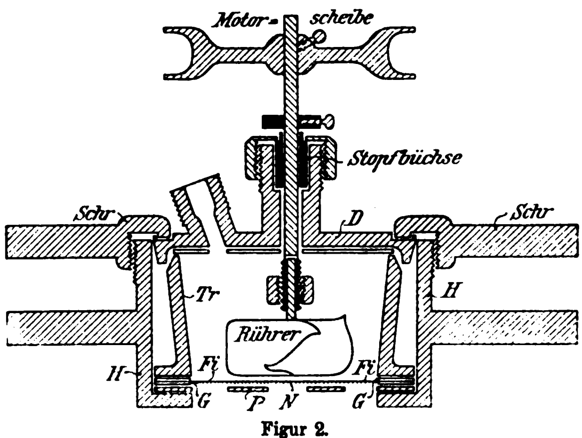


Figur 1.

[1]) Sämtliche in dieser Arbeit beschriebenen neuen Apparate sind zu beziehen durch die „Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf" Berlin, Chausseestr. 8.

ist der Deckel *D* luftdicht aufgeschliffen. An der Querstange *S* sind eine Anzahl runder Filterscheiben F (in meinen Apparat gehen ca. 12) aufgehängt. Der Deckel *D* hat zwei Tuben. Durch Tubus 1 gehen zwei Röhren; die eine führt nach der Luftpumpe *L*, die andere zum Vakuumeter *V*. Ist die Luft aus dem Trog entfernt, so läßt man durch den mit Hahn versehenen Trichter *Tr*, dessen Rohr bis auf den Boden führt, die Gallertflüssigkeit eintreten, bis sie die Filter bedeckt, schließt den Hahn zum Trichter und öffnet den Hahn durch welchen ursprünglich die Luft ausgepumpt wurde; so wird die Gallertfüssigkeit unter Atmosphärendruck in die Filter gepreßt. Nach einiger Zeit nimmt man den Deckel ab, hebt die Stange mit den Filtern aus der Flüssigkeit und läßt abtropfen. Schließlich gelatiniert man, indem man rasch das ganze Filter in eine geeignete Flüssigkeit taucht; bei Eisessigkollodium genügt Wasser. Arbeitet man mit Gelatine, so muß der ganze Imprägniertrog in einem Bad mit lauem Wasser stehen. Die Härtung der Gelatinefilter erfolgt derart, daß man die an der Luft gelatinierten, noch feuchten Filter in eine mit Eis gekühlte, 2—4 prozentige Formaldehydlösung taucht und einige Tage im Eisschranke stehen läßt.

Die Filter, auf welche Art sie immer gewonnen sein mögen, werden dann mehrere Tage in fließendem Wasser gewaschen und in Wasser aufgehoben, dem man etwas Chloroform zusetzt, um Schimmelbildung zu unterdrücken.



Figur 2.

Das Wasser läßt sich in den Filtern sukzessive durch organische Flüssigkeiten (Alkohol, Aceton usw.) ersetzen, so daß die Filter auch zur Trennung von organischen Lösungsmitteln dienen können. Sie sind gegen Verletzungen empfindlicher als Wasserfilter.

Die Filter werden in einen Apparat gespannt, den Fig. 2 im Schnitt darstellt. Er ist aus Rotguß, stark vernickelt und

besteht aus einem zylindrischen Gefäß *H*, in dem der eigentliche Trichter *Tr* aufsitzt. Zwischen die unteren Ausbuchtungen von *Tr* und *H* werden die runden flachen Filterscheiben *Fi* gepreßt. Die Dichtung erfolgt durch zwei Gummiringe *GG*. Zum Schutze gegen das Reißen des Filters liegt dasselbe auf einem ebenfalls flachen, runden Nickeldratnetz *N* auf und ist gegen zu starke Ausbuchtung bei Druck durch die mit mehreren großen Löchern durchsetzte Platte *P* geschützt. Der Trichter *Tr* ist oben konisch abgedreht und wird durch den Deckel *D* mit Konusverschluß und Gummidichtung abgeschlossen. Durch Andrehen des Schraubenverschlusses Schr wird sowohl der Deckel oben als auch das Filter unten mit einer Handbewegung dicht verschlossen. — Durch den Deckel führt ein kleiner Ansatz mit Schraubenwindung, an dem das Rohr zur Druckpumpe[1]) (Schraubenverschluß mit Konus) befestigt wird. Dieser Apparat genügt für Drucke von 0,1—10 Atmosphären Überdruck.

Die hier wiedergegebene Abbildung zeigt eine besondere Modifikation des gewöhnlich benutzten Apparates. Während sonst der Deckel *D* glatt abschließt, sehen wir hier noch einen Rührer, der durch einen Elektromotor betätigt wird. Manche Kolloide scheiden sich leicht als Gallerte auf dem Filter ab (z. B. kolloidales Eisenoxyd, Kieselsäure, Albumin u. a.) und bilden selbst ein neues Filter, das oft dichter ist als das ursprüngliche, was, abgesehen von Täuschungen, eine große Erschwerung der Filtration zur Folge haben kann. In diesen Fällen hat sich der Rührer als sehr zweckmäßig erwiesen.

Man wird ihn nur in solchen Fällen anwenden, während der glatte Deckel überall da vorzuziehen ist, wo die geschilderte Gefahr nicht vorliegt, denn die Stopfbüchse ist bei hohen Drucken nicht leicht dauernd dicht zu halten.

Filter und Filterwirkung.

Während die Filter, die aus einer Herstellung stammen, besonders bei Verwendung von Eisessigkollodium untereinander sehr gleichmäßig sind, weichen die Filter aus verschiedener Her-

---

[1]) Als Ersatz für die Druckpumpe dürfte sich, im Anschluß an einen Rat von Dr. Eichengrün, eine Stahlflasche mit komprimierter Kohlensäure empfehlen.

stellung, wenn auch die übrigen Bedingungen die gleichen sind (gleiche Gallertelösung, gleiches Papier usw.), nicht unerheblich voneinander ab.

Um nun die Filter verschiedener Herstellung miteinander vergleichen zu können, war es notwendig, einen geeigneten Standard, ein Maß zu suchen, an dem die Durchlässigkeit der Filter gemessen werden konnte. Bisher erwies sich mir am zweckmäßigsten 1prozentige Hämoglobinlösung[1]: sie wird von Filtern mittlerer Dichte gerade zurückgehalten, wird von dem Filtermaterial praktisch nicht adsorbiert und ist zudem gefärbt, was die Grenzbestimmung sehr erleichtert. Der Durchmesser der größten Poren von Filtern, die Hämoglobinlösungen zurückhalten, ist $< 20\ \mu\mu$ (vgl. S. 000).

Ich bezeichne deshalb jedes Filter nach der Konzentration der Gallerte, mit der es imprägniert ist, und gebe in Klammern an, welches Filter (aus der gleichen Herstellung) 1prozentige Hämoglobinlösung, die mindestens zwei Tage gestanden hat, gerade zurückhielt. Z. B. 3% (H 4%) heißt: ich habe ein Filter, das mit 3 prozenziger Gallertlösung getränkt ist; es läßt Hämoglobinlösung reichlich passieren, da diese erst von einem Filter gleicher Herstellung vollständig zurückgehalten wird, die mit 4 prozentiger Gallerte getränkt ist. Ganz andere Eigenschaften hat ein Filter 3% (H 2, 5%). Dies ist ebenfalls mit 3 prozentiger Gallerte getränkt, läßt aber kein Hämoglobin mehr durch, denn dies wird schon von einem mit 2,5 prozentiger Gallerte getränkten Filter zurückgehalten. Die meisten, später benutzten Filter sind im Vakuum imprägniert; sie sind mit *v* bezeichnet, z. B. 3% *v* (*H* 2,5% *v*). Bei Gelatinefiltern ist noch die Konzentration der Formaldehydlösung beigefügt, z. B. *G* 5% *v* *F* 2% (*H*, *G* 4% *v* *F* 2%), d. h. es ist ein Gelatinefilter mit 5prozentiger Gelatinelösung im Vakuum imprägniert und in 2prozentiger Formaldehydlösung gehärtet; es ist für Hämoglobinlösung undurchlässig, die gerade durch ein gleich behandeltes 4prozentiges Gelatinefilter zurückgehalten wird.

Bei allen Versuchen und Messungen, bei welchen nichts Besonderes bemerkt wird, wurde nur eine Filterscheibe benutzt.

---

[1]) Seit kurzem verwende ich auch Kohlenoxydhämoglobin, das vor dem gewöhnlichen Hämoglobin manche Vorzüge hat.

Man kann natürlich dem Filter eine größere Dichte geben, indem man mehrere Scheiben gleicher oder verschiedener Dichte übereinander legt, was für praktische Zwecke zuweilen von Vorteil ist.

Um eine Vorstellung zu geben, welche Drucke bei der Filtration in Betracht kommen, seien einige Zahlen aus meinen Protokollen angeführt, die einerseits zeigen, mit wie geringen Überdrucken — alle Zahlen bezeichnen Überdrucke über eine Atmosphäre — man bei den weitporigen Filtern auskommt, wie sehr aber der Druck bei den dichteren Filtern gesteigert werden muß. (Alles ist auf eine Minute umgerechnet.)

Es filtrieren bei einer Filterfläche von ca. 35 qcm durch ein:

						Filtrat		Filtrans
2,1 %	Eisessigkollodiumfilter	bei 0,5	Atm.	in 1	Min.	24	ccm	(unreines Wasser)
2,1 „	„	„ 1	„	„ 1	„	40	„	„ „
2,5 „	„	„ 0,5	„	„ 1	„	8,3	„	„ „
2,5 „	„	„ 1,0	„	„ 1	„	16,6	„	„ „
2,5 „	„	„ 1,5	„	„ 1	„	0,5	„	(Magermilch)
3 „	„	„ 1,0	„	„ 1	„	3,5	„	(koll. Eisenoxyd)
4,5 „	„	„ 2	„	„ 1	„	2	„	(Vollserum)
10 „	„	„ 0,5	„	„ 1	„	0,1	„	(0,5 lysargins. Na)
10 „	„	„ 2	„	„ 1	„	0,28	„	(verdünnte Kollargollösung)
10 „	„	„ 5	„	„ 1	„	0,65	„	
10 „	„	„ 8	„	„ 1	„	1	„	
10 „	„	„ 10	„	„ 1	„	1,1	„	

Besonders instruktiv ist der letzte Teil der Tabelle (verdünnte Kollargollösung), welche den beschleunigenden Einfluß des Druckes auf die Filtriergeschwindigkeit zeigt.

Ich brauche wohl kaum zu erwähnen, wie sehr die Viskosität des Filtrats die Filtrationsgeschwindigkeit vermindert; auch hierfür ist ein instruktives Beispiel in der Tabelle: in einer Minute filtrieren 16,6 ccm Wasser, aber trotz erhöhten Druckes nur 0,5 ccm Molken (von Magermilch, nur Spuren von Eiweiß oder Casein enthaltend) durch das 2,5prozentige Filter.

Bereits im Anfang ist dargelegt, daß die Ultrafilter wie ein Sieb wirken können, richtiger wäre vielleicht der Vergleich mit einem Schwamm, da die Poren eines Filters ungleich groß sind. Aber auch die Teilchen einer kolloidalen Lösung sind untereinander nicht von gleicher Größe, wie nachstehender Versuch erweist:

Ich zentrifugierte eine Kollargollösung (kolloides Silber) eine Stunde lang bei 6000 Umdrehungen in der Minute und erhielt so drei Fraktionen. Auf dem Boden hatte sich eine schwarze Masse abgesetzt, von dieser war:

ein Teil A, unlöslich im Wasser,

der andere Teil B, löslich in Wasser, aber sehr stark opalescierend.

Im Ultramikroskop sah man hauptsächlich sehr helle, gelbe, mäßig bewegliche Punkte. Auf dem Gallertfilter setzte diese Fraktion einen in feuchtem Zustand rostroten Niederschlag ab, während sonst der Rückstand von einer Kollargolfiltration tiefschwarz, metallisch glänzend ist. Auch die stark verdünnte Lösung war rotstichig.

Die beim Zentrifugieren gelöst gebliebene Fraktion C war sehr wenig opalescent und zeigte im Ultramikroskop hauptsächlich grüne, ziemlich lichtschwache, sehr bewegliche Punkte. Auf dem Gallertfilter setzte sich der übliche schwarze, metallglänzende Kollargolniederschlag ab, und die stark verdünnte Lösung war braungelb. Das verschiedene Absetzen beim Zentrifugieren, sowie die verschiedene Beweglichkeit und Lichtstärke im Ultramikroskop erweisen die verschiedene Teilchengröße in jener Kollargollösung. Ich konnte nun ein Filter ausfindig machen, das die Kollargolfraktion B, gelöst in einem wasserklaren Filtrat von einer Kollargollösung, in der kein Ag mehr war, zum größten Teil zurückhielt, während es die Kollargolfraktion C, welche nachher auf das gleiche Filter gegeben wurde, zum großen Teil passieren ließ.

So ist mittels der Filtrationsmethode die Verschiedenheit der Teilchengröße in einer einheitlichen kolloiden Lösung erwiesen.

Teilchengröße nach der Ultrafiltrationsmethode.

Die rein mechanische Vorstellung muß zu der Überzeugung führen, daß es möglich ist, durch zunehmende Dichtung eines Filters immer feinere Partikel zurückzuhalten. Auf diesem Prinzip sind die beschriebenen Filter hergestellt, und auf Grund der damit vorgenommenen Filtrationen habe ich nachstehende Tabelle aufgestellt, welche von oben nach unten die zunehmende Kleinheit der Teilchen in den untersuchten Lösungen erweisen soll. — Sie

reicht bis etwa H 4% v in das auf Umwegen noch der ultramikroskopischen Beobachtung zugängliche Gebiet von 1—4 $\mu\mu$. Innerhalb dieser Grenze zeigt sich im ganzen Übereinstimmung mit den Ergebnissen der ultramikroskopischen Untersuchung.

Ich bestimmte den Teilchendurchmesser in einer frischen Kollargollösung zu durchschnittlich ca. 20 $\mu\mu$. Da Kollargol im allgemeinen von Filtern gerade zurückgehalten wird, die auch Hämoglobin gerade zurückhalten, so sind die größten Poren dieser H_4% v Filter < 20 $\mu\mu$. — Die Hämoglobinteilchen dürften jedoch etwas kleiner sein, als die kleinsten Kollargolteilchen, da ich einzelne Filter fand, die zwar Kollargol vollkommen zurückhielten, aber Spuren von Hämoglobin noch durchließen. — Ferner verdanke ich der Liebenswürdigkeit von Herrn Dr. Zsigmondy einige Goldlösungen, deren Teilchengröße er bestimmt hatte.

Man darf natürlich den Wert der Tabelle nicht überschätzen, weil sie ja nur die untersten Grenzen bezeichnet: besteht eine Lösung zumeist aus groben Teilchen, so wird sie doch in gleicher Reihe stehen mit einer Lösung, die nur solch ganz kleine Teilchen enthält.

Die Reihenfolge bezieht sich auf Filter, die gerade die betreffenden Lösungen vollkommen zurückhalten.

Suspensionen.
Berlinerblau
Platinsol (nach Bredig).
Kolloides Eisenoxyd.
Casein (in Milch).
Kolloides Arsensulfid.
Goldlösung (Zsigmondy) Nr. 4 (ca. 40 $\mu\mu$).
Bismon (koll. Wismutoxyd nach Paal).
Lysargin (koll. Silber nach Paal).
Kollargol (koll. Silber v. Heyden) (ca. 20 $\mu\mu$).
Goldlösung (Zsigmondy) Nr. 0 (ca. 1—4 $\mu\mu$[1]).
1% Gelatinelösung.
1 prozentige Hämoglobinlösung (Mol.-Gew. ca. 16 000 ?)
Serumalbumin (Mol.-Gew. 5000-15000).
Diphtherietoxin.
Protalbumosen.
Kolloide Kieselsäure.
Lysalbinsäure.
Deuteroalbumosen A.
Deuteroalbumosen B (Mol.-Gew. ca. 2400).
Deuteroalbumosen C.
Lackmus.
Dextrin (Mol.-Gew. ca 965).
Krystalloide.

---

[1]) Die Stellung dieser Goldlösung im Verhältnis zu Hämoglobin kann noch nicht als definitiv angesehen werden.

Trotz der geäußerten Bedenken sehen wir doch, daß die nach der Filtrationsmethode gruppierte Reihenfolge in der Teilchengröße der untersuchten Stoffe übereinstimmt mit dem, was wir durch theoretische Überlegung und Ultramikroskop von ihnen wissen.

Wir sehen, daß die nach den gewöhnlichen Vorschriften hergestellten anorganischen Suspensionskolloide die gröbste Zerteilung aufweisen, daß eine Goldlösung von 40 $\mu\mu$ von einem gröbern Filter zurückgehalten wird, als eine von 1—4 $\mu\mu$; wie, daß kolloidale Metallösungen, die in Gegenwart eines Schutzkolloids hergestellt sind (Kollargol, Lysargin), eine feinere Zerteilung aufweisen als ohne Schutzkolloid (Platinsol).

Die organischen Kolloide, wie Serumalbumin und Hämoglobin, zeigen, nach der Filtrationsmethode beurteilt, ein gröberes Korn als ihre Spaltungsprodukte, die Albumosen und das Hämatin. Unter den Albumosen zeigen sich Verschiedenheiten in der Filtrierbarkeit entsprechend ihrer Salzfällbarkeit, die ja mit größter Wahrscheinlichkeit von der Teilchengröße abhängt. Durch noch engere Filter passiert das Dextrin, dem man das Molekulargewicht 965 zuschreibt, und die Krystalloide.

Wir sehen somit alle Voraussetzungen erfüllt und glauben behaupten zu dürfen, daß die beschriebene Filtrationsmethode eine Gruppierung nach der Teilchengröße gestattet, und daß ihre Anwendbarkeit schon jetzt weit unter das Gebiet der Amikronen in ein Gebiet hineinreicht, das man bereits als zu den Krystalloiden gehörig bezeichnen kann.

Einige anorganische und organische Kolloide, welche vom Filter praktisch nicht adsorbiert werden.

Ich will diesen Teil meiner Untersuchungen hier nur kurz streifen und verweise den, der sich dafür speziell interessiert, auf meine Veröffentlichung in der „Zeitschr. für physikal. Chemie". Die nach den üblichen Methoden hergestellten anorganischen Suspensionskolloide, wie Berlinerblau, Platinsol, Arsensulfid, sind ultramikroskopisch leicht auflösbar, werden von relativ weitporigen Filtern zurückgehalten und flocken bei der Ultrafiltration leicht aus. Der Hauptgrund dürfte in der raschen Konzentration an der Filterfläche zu suchen sein; schon Zsig-

mondy beobachtete bei seinen ultramikroskopischen Studien, daß „stets dann Koagulation eintritt, wenn die Einzelteilchen einander genügend nahe gebracht werden.“

Durch Zusatz von Schutzkolloloiden, wie Gelatine, Eiweiß usw., wird bekanntlich die Stabilität solcher Suspensionskolloide besonders gegen Ausflockung durch Elektrolyte wesentlich erhöht; ebenso wird von ihnen die Passierbarkeit durch Filter etwas begünstigt. Die Gründe für letztere Eigenschaft können in den elektrischen Ladungen gesucht werden, ferner darin, daß die Schutzkolloide die Reibung vermindern, gewissermaßen als „Schmierung“ dienen. Wir wissen durch Ramsden, daß sich die genannten Substanzen an der Grenzfläche anreichern, ferner daß sie die Filterporenwände auskleiden, die Suspensionen und Kolloidteilchen umhüllen können. Diese „Umhüllungstherorie“, welche wir zuerst aufstelltεn[1]) und begründeten, ist jetzt wohl fast allgemein angenommen[2]). — Schließlich könnten die Schutzkolloide die Zusammenballung verhindern und damit das Passieren der Filterporen begünstigen.

Zur Untersuchung der Frage waren verschiedene elektrische Überführungen vorzunehmen. — Ich bediene mich zu solchen schon seit Jahren eines Apparates, der sich als sehr zweckmäßig erweist und auf dessen Beschreibung ich auf meine Abhandlung in der „Zeitschr. für physikal. Chemie **60**, 303“ verweise.

Die Entscheidung wurde erbracht durch eine Erscheinung, welche ich hier der Kürze halber als das „Reihenfolgephänomen“ bezeichnen will. Bei Filtrationsversuchen mit Berlinerblau, dem als Schutzkolloid Serumalbumin und zur Erteilung einer bestimmten elektrischen Ladung Oxalsäure zugesetzt war, zeigte sich nämlich, daß die Filtrierbarkeit abhängig ist von der Reihenfolge in der man die einzelnen Bestandteile zusammengießt.

Der Kürze halber bezeichnen wir kolloides Berlinerblau B, Serumalbumin S, Oxalsäure O. Selbstverständlich wurden die

---

[1]) Bechhold, Ausflockung v. Suspensionen bzw. Kolloiden u. d. Bakterienagglutination. Zeitschr. f. physikal. Chem. **48**, 385ff, 1904. — Neisser und Friedemann, Studien über Ausflockungserscheinungen. Münch. med. Wochenschr. **1904**, Nr. 11 u. 19.

[2]) Vgl. Michaelis u. Pincussohn. Zur Theorie der Kolloidumhüllung. Diese Zeitschr. **2**, 251—263, 1906.

gleichen Lösungen benutzt und nur die Reihenfolge gewechselt; stets kam das gleiche Filter zur Verwendung.

B	passiert nicht,
$B+S$	blaues Filtrat,
$B+S+O$	blaues Filtrat,
$B+O+S$	passiert nicht.

Bei zehnstündiger elektrischer Überführung zeigte sich, daß

$B+S+O$ nach der Kathode wandern,
$B+O+S$ ebenfalls nach der Kathode wandern.

$B+S+O$ und $B+O+S$ wandern beide gleichmäßig nach der Kathode, sie müßten also, wenn die elektrische Ladung bei der Filtration eine wesentliche Rolle spielte, sich auch hier gleichmäßig verhalten. Das ist aber nicht der Fall: $B+S+O$ wird teilweise durchgelassen, $B+O+S$ nicht. — Es bleibt somit als wahrscheinliche Annahme übrig, daß die Schutzkolloide die Zusammenballung der Teilchen verhindern und die Reibung im Filter vermindern.

Theoretisch ist es nicht ausgeschlossen, daß man auch bei den anorganischen Suspensionskolloiden Lösungen erhalten kann, die sich molekularen, zum mindesten krystalloiden Dimensionen nähern, praktisch hat Zsigmondy bereits Goldlösungen hergestellt, die meines Erachtens sich ungefähr in den Dimensionen von Hämoglobin bzw. Serumalbuminteilchen bewegen, und auch in Gegenwart von Schutzkolloiden hergestellte kolloide Silberlösungen, wie Kollargol und Lysargin, gehören in dies Bereich.

Kolloides Eisenoxyd, das in manchen Eigenschaften den organischen Kolloiden von der Natur des Albumins nahe steht, hat auf Grund der Filtrationsversuche eine recht grobmassige Struktur, während die ihm verwandte kolloide Kieselsäure noch recht feinporige Filter passiert.

Im großen ganzen kann man jedoch sagen, daß die „natürlichen“ organischen Kolloide wie Hämoglobin, Albumin usw. kleinere Teilchen aufweisen und ihre teilweise Unauflösbarkeit durch das Ultramikroskop nicht nur in den Brechungsverhältnissen liegt.

Für den Biochemiker dürfte es von Interesse sein, auf die Versuche mit organischen Kolloiden etwas näher einzugehen.

Hämoglobin. Zur Verwendung kam teils selbst angefertigtes Hämoglobin aus frischem Blut, teils Mercks Hämoglobin pulverisiert, teils in lamellis. Es färbt die verschiedenen Filtermaterialien nicht an, wird also nicht nennenswert adsorbiert. — Eine Hämoglobinlösung läßt sich durch Filtration bis zu einer dicken Schmiere konzentrieren, die sich leicht wieder in Wasser löst. — Der zur Filtration erforderliche Druck hängt außer von der Filterdichte auch von der Konzentration des Filtrans ab. Während man bei verdünnten Lösungen schon mit 0,4 Atmosphären Überdruck durch ein 4%-Filter Wasser abfiltrieren kann, sind für höhere Konzentrationen mehrere Atmosphären erforderlich. Das gleiche gilt für alle viskösern organischen Kolloide.

Serumalbumin. Es kam meist frisches Albumin von Pferdeserum zur Verwendung, das durch mehrtägige Dialyse von Salzen und von Globulin befreit war.

Verwendet man zu Filtrationsversuchen ein Serum, das nicht vollkommen von Globulin befreit ist, so passiert es leicht, daß sich nachträglich das Globulin in den Filterporen ausscheidet und das Filter verstopft. — Serumalbumin ist ganz wenig leichter filtrierbar als Hämoglobin und wird von 4,5% *v* (*H* 4% *v*)-Filtern vollkommen zurückgehalten; doch halten auch einzelne 4% *v*-Filter es bereits vollkommen zurück. Ebenso wie Hämoglobin läßt es sich durch Filtration zu einer Schmiere eindicken. Die gelbliche Färbung bleibt bei dem Filterrückstand, während eine wasserklare Flüssigkeit passiert.

Bei einem frischen, nicht dialysierten Kaninchenserum konnten im Filtrat weder Eiweiß, noch Albumosen, noch irgend ein Proteid nachgewiesen werden (keine Trübung bei der Kochprobe, keine Trübung bei Sättigung mit Ammoniumsulfat, keine Biuretreaktion), trotzdem enthielt das Filtrat noch geringe Mengen organische Substanz (verkohlt auf dem Platinblech).

Eine praktisch in Betracht kommende Adsorption durch die Filtermaterialien findet nicht statt.

Bei Filtration ohne Rührer setzt sich Serumalbumin als steife Gallerte auf dem Filter ab, die in Wasser, bzw. physiologischer Kochsalzlösung langsam wieder quillt und sich dann löst.

Serumglobulin. Siehe bei Mischungen S. 401.

Gelatine. Von 150 ccm einer 1prozentigen Lösung wurden 60 ccm abfiltriert durch ein 3,5% *v* (*H* 4% *v*)-Filter bei zwei Atmosphären abfallend auf eine Atmosphäre. Die Filtration erfolgt ziemlich langsam. Das Filtrat gab noch eine ganz geringe Trübung mit Gerbsäure. 45 ccm des Filtrats wurden rasch (in ca. 20 Minuten) auf 1,5 ccm eingedunstet und 24 Stunden in den Eisschrank gestellt, die Flüssigkeit war nicht gelatiniert, gab noch die Biuretreaktion, Zusatz von NaOH-Lösung auch im Überschuß gab einen Niederschlag. Das Filtrat enthält somit noch eine organische Substanz, die aber keine Eigenschaften der Gelatine mehr besitzt. Im Trichter ist der obere Teil des Filtrans flüssig, am Filter, wo die Konzentration erfolgt, war gelatiniert.

3% *v*-Filter läßt etwas Gelatine durch.

Albumosen. Das im Handel befindliche sogenannte Pepton Witte besteht im wesentlichen aus einem Gemenge der verschiedensten Albumosen. Das Hofmeistersche Einteilungsprinzip scheint geeignet, die höhermolekularen Albumosen von den einfacheren zu trennen. Die Trennung erfolgt durch Ammoniumsulfat und wird gekennzeichnet durch den Grad der Sättigung mit Ammoniumsulfat ausgedrückt in Sättigungsprozenten.

Es ist die:

Fällungsgrenze für		Sättigungsprozente für Ammoniumsulfatlösung
Protalbumosen		24—42%
Deuteroalbumosen	A	54—62%
„	B	70—95%
„	C	100% + Säure.

Als ich solche Albumoselösungen durch verschieden dichte Filter filtrierte, zeigte sich, daß sich auch durch die Filtration Fraktionen voneinander trennen lassen, die recht gut den durch Ammoniumsulfat erzielten Fraktionen entsprechen.

Versuch: Es wurde eine 5 prozentige Lösung von Wittepepton hergestellt, 24 Stunden im Eisschrank belassen und die ausgeflockte Trübung in einem gewöhnlichen Filter abfiltriert. Diese Lösung war bei 23% Sättigung mit Ammoniumsulfat fällbar. Sie wurde bei einer Atmosphäre durch ein 3% (*H* 2,5%)-Filter filtriert. Der Filterrückstand wurde noch zweimal mit Wasser verdünnt und durch das gleiche Filter filtriert. Alle Filtrate begannen bei 34% Sättigung mit Ammoniumsulfat sich zu trüben; das letzte Filtrat entsprechend der Verdünnung natür-

lich weniger als das vorhergehende. — Der trübe Filterrückstand wurde durch ein gewöhnliches Filter filtriert; das klare Filtrat gab wieder bei 23% Sättigung mit Ammoniumsulfat einen Niederschlag.

Es war somit eine Trennung der unter 34% ausfällbaren Albumosen erfolgt von den über 34% ausfällbaren.

Um zu prüfen, ob die Filtration eine scharfe Trennung der Albumosenfraktionen gestattet, wurde eine 5 prozentige Wittepeptonlösung zu 34% mit Ammoniumsulfat gesättigt, der Niederschlag abfiltriert, mit 34% gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und der Rückstand in Wasser gelöst. Diese Lösung wurde bei einer Atmosphäre durch ein 3% (*H* 2,5%)-Filter filtriert. Das Filtrat gab selbst bei großem Überschuß von gesättigter Ammoniumsulfatlösung nur noch eine schwache Trübung, die von ungenügendem Auswaschen des Niederschlages herrühren kann. — Es findet somit durch die Filtration eine etwa ebenso gute Trennung der beiden Albumosenfraktionen statt, wie durch die Ammoniumsulfatmethode.

5% Wittepeptonlösung wurde mit 34% Ammoniumsulfatlösung gesättigt, der Niederschlag abfiltriert und das im wesentlichen aus Deuteroalbumosen bestehende Filtrat bei 1,4 Atmosphären durch ein 4% (*H* 2,5%)-Filter filtriert. Das Filtrat gab bei 90% Sättigung mit Ammoniumsulfatlösung nur eine schwache Trübung, bei 95—100% Sättigung eine starke Ausflockung. Es wurden somit die Deuteroalbumosen A und B zurückgehalten, die Deuteroalbumosen C durchgelassen. Der Filterrückstand war trübe, die Trübung in Wasser nicht mehr ganz löslich. Der lösliche Teil des Filterrückstandes erfuhr keine Änderung bei 34% Sättigung mit Ammoniumsulfatlösung. Bei höherer Sättigung erfolgte Ausflockung.

Stellen wir das Resultat nochmals kurz zusammen:

	Sättigungsprozente für Ammoniumsulfatlösung	Filtration	Sättigungsprozente für Ammoniumsulfatlösung
Protalbumosen	24—42%	Rückstand vom 3%-Filter	34%
Deuteroalbumosen A u. B	54—95%	„ „ 4 „ „	34— 95%
„ C	100% + Säure	Filtrat „ 4 „ „	95—100%

Analoge spätere Versuche, bei denen die Filtrate mit Esbachs Reagens auf vollkommene Abwesenheit von Proteinen

geprüft wurden, zeigten, daß Protalbumosen bereits von 4,5% *v* (*H* 4% *v*)-Filter vollkommen zurückgehalten wurden, Deuteroalbumosen A von 8% *v* (*H* 4% *v*), während kleine Bruchteile einer Deuteroalbumosen B + C-Fraktion ein 10% *v* (*H* 4% *v*)-Filter noch passierten. — Die Filter waren weiter als die bei dem vorigen Versuch benutzten.

Wir sehen somit, daß man, parallel der Scheidung durch Ammoniumsulfat, auch eine Trennung von Albumosen durch verschieden dichte Filter erzielen kann, was offenbar der verschiedenen Teilchengröße zuzuschreiben ist.

Lysalbinsaures Na, das mir liebenswürdigerweise von Herrn Prof. Dr. Paal zur Verfügung gestellt worden war, wurde vom 8% *v* (*H* 4% *v*)-Filter vollkommen zurückgehalten, während es durch ein 6% *v* (*H* 4% *v*)-Filter noch in Spuren passierte. Es steht somit etwa auf der Stufe der Deuteroalbumosen.

Dextrin. — Ein 5% *v* (*H* 4% *v*)-Filter läßt eine 5 prozentige Dextrinlösung zum größten Teil passieren; im Rückstand bleibt eine geringe Menge etwas konzentrierterer Lösung. Das Filtrat hiervon durch 10% *v* (*H* 4% *v*)-Filter filtriert. Als Filtrat erhält man eine ganz verdünnte Dextrinlösung, die sich aber in ihrem Verhalten gegen Jod (blauviolette Färbung) nicht von einer ganz verdünnten Originaldextrinlösung unterscheidet. — Da die Papierzwischenlage des Filters sich mit Jod bläut, so hatte ich Zweifel, ob nicht das Filtrat durch eine Stärkeabgabe seitens des Filters die Reaktion mit Jod gebe. Deshalb wurde Filtrierpapier mit wenig Wasser 24 Stunden lang stehen gelassen; das Wasser gab keine Spur einer Reaktion mit Jod; somit hat in der Tat etwas Dextrin das 10% *v*-Filter passiert.

Chlorophyll. Ein technisches Chlorophyll, welches offenbar noch die Fette, Wachsarten, Lecithin usw. enthielt, wurde in 2prozentiger alkoholischer Lösung bei 2,5 Atmosphären durch ein 10% *v*-Alkoholfilter filtriert. — Das Filtrat war ganz wenig gelbgrünlich gefärbt, und es schied sich darin eine weiße, wachsartige in NaOH unlösliche Masse aus, die offenbar in der Chlorophyllösung durch andere Stoffe in Lösung gehalten worden war, während der grüne Farbstoff durch das Filter zurückgehalten wurde. — Beim Verdünnen des alkoholischen Filtrats mit Wasser schieden sich Wachs usw. als milchige Emulsion ab. — Vielleicht könnte die Filtration einen praktischen Weg zur Reinigung von Chlorophyll bieten.

Adsorptionsvorgänge.

Wie bereits am Anfang erwähnt, kann die Adsorption die Vorgänge bei der Filtration stark beeinflussen. Wo man mit größeren Mengen operieren kann, spielt die Adsorption des Filters praktisch eine nebensächliche Rolle, denn schließlich erreicht ja diese Adsorption einmal eine Grenze. — Bei vielen, für die Biologie und Medizin wichtigen Stoffen, wie Toxinen, Antitoxinen, Fermenten usw., sind aber die aktiven Substanzmengen so gering, daß das Filtrationsresultat dadurch oft vollkommen umgeworfen wird.

In erster Linie ist an die Adsorption durch das Filtermaterial zu denken.

Ich habe bei Serumalbumin, Globulin, Hämoglobin, Casein niemals eine praktisch in Betracht kommende Adsorption durch meine Filtermaterialien beobachten können, während Substanzen von sehr intensiver physiologischer Wirkung auch von dem einen oder andern Filtermaterial sehr intensiv adsorbiert wurden.

Einige Beispiele mögen dies erweisen:

Lab wird in hohem Maße vom Eisessigkollodiumfilter adsorbiert; nur wenn man ein dichtes Filter nimmt, das kein Serumalbumin durchläßt, kann man Lab im Filterrückstand anreichern.

Antilab, welches im normalen Pferdeserum vorkommt und die Wirkung des Lab aufhebt, wird vom Eisessigkollodiumfilter nur wenig adsorbiert; es passiert Filter, welche Serumalbumin durchlassen, und wird von solchen, die es zurückhalten, ebenfalls größtenteils zurückgehalten. Vielleicht passiert es etwas leichter als Serum, doch bedarf es noch genauerer Untersuchungen, ob das Antilab an die Filtration des Serums gebunden ist oder nicht.

Arachnolysin. Eine ganz besonders instruktive Substanz ist Arachnolysin, das wirksame Prinzip des Giftes der Kreuzspinne (Epeira diadema), welches von Hans Sachs[1]) gefunden und studiert ist, dem ich auch die Substanz verdanke. — Arachnolysin zerstört die roten Blutkörperchen; während manche Tierarten ganz unempfindlich dagegen sind, ist es gegen andere von enormer Giftigkeit. So vermag z. B. das Gift aus einer Kreuzspinne 2,5 Liter Kaninchenblut vollständig zu lösen.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 125—133, 1902.

Die Prüfung erfolgt mit Kaninchenblutkörperchen.

Bei der Filtration durch Reichelkerze sind ca. 15% Arachnolysin filtriert, der Rückstand mußte etwas mehr als dreimal so konzentriert sein, war aber doppelt so konzentriert. Es hatte somit in der Tat eine erhebliche Konzentration infolge der Enge der Poren stattgefunden, und nur ein kleiner Teil wurde vom Reichelfilter adsorbiert.

Bei der Filtration durch Chamberlandkerze wurde nichts durchgelassen, und der Rückstand hatte sich nicht konzentriert. Die Kerze hat somit alles adsorbiert.

Bei Filtration durch 2,5%-Eisessigkollodiumfilter von verschiedener Konzentration wurde ebenfalls meist alles adsorbiert, ebenso von Papierfilter 50%. — Um zu prüfen, ob es sich um chemische Bindung oder Adsorption handle, wurde ein vielgebrauchtes Filter mit Wasser gut ausgewaschen, in Stücke geschnitten und an Kaninchenblutkörperchen geprüft. In der Tat trat starke Hämolyse ein; es war somit Adsorption des Giftes eingetreten.

Während das pflanzliche Papier und Eisessigkollodium so starke Adsorptionswirkung ausübten, wurden von einem entsprechend dichten 2 prozentigen Formol-Gelatinefilter (nach Abzug der Adsorption durch die Papiereinlage) nur wenig zurückgehalten.

Schüttelversuche mit Eisessigkollodium und Formolgelatine gaben analoge Adsorptionsresultate.

Nach den unterschiedlichen Ergebnissen bei der tierischen Gelatine und dem pflanzlichen Eisessigkollodium war es von Interesse, zu sehen, welchen Adsorptionseinfluß Serum auf das Arachnolysin ausübt. — Es zeigte sich, daß Serum kein Arachnolysin adsorbiert. — Es ist dies von biologischem Interesse, denn es erwies, daß das Gift beim Biß der Spinne durch die Gegenwart des Serums keine Beeinträchtigung erfährt.

Sehr ähnlich wie bei Arachnolysin liegen die Verhältnisse beim Staphylolysin, dem Ausscheidungsprodukt der Staphylokokken. Seine toxische Wirkung beruht ebenfalls darauf, daß es Blutkörperchen löst. Das Staphylolysin verdanke ich Herrn Professor Dr. Max Neisser. Die Versuche wurden mit dem zehnfach verdünnten Lysin, genau wie vorher an Kaninchenblutkörperchen angestellt. Auch hier wurde durch Filtrations-

und Schüttelversuche festgestellt, daß das Lysin von Eisessigkollodium, Cellulose (Filterpapier), aber auch von Formolgelatine fast vollkommen adsorbiert wird.

Diphtherietoxin. Während die vorhergenannten Toxine durch Hämolyse wirken, ist das Diphtherietoxin in der Hauptsache ein Nervengift, und es war interessant, dessen Verhalten bei der Filtration kennen zu lernen. Das Diphtherietoxin ist das giftige Ausscheidungsprodukt der Diphtheriebacillen.

Ich verwandte ein Diphtherietoxin (April 1905) des Instituts, dessen Giftigkeit von Professor Dr. Otto zu 0,005 festgestellt war, d. h. 0,005 ccm des Toxins töten binnen vier Tagen ein Meerschweinchen von 250 g, dem das Gift subkutan injiziert ist. Die Versuche werden in der Weise vorgenommen, daß einer Reihe von Meerschweinchen abfallende Mengen des Toxins subcutan injiziert, und die Zeit des eventuellen Todes festgestellt wird. Die Diphtheriewirkung läßt sich leicht an der Rötung der Nebennieren und an dem starken Ödem im Injektionsgebiet erkennen; häufig stellt sich auch Hydrothorax ein.

Es wurden filtriert: 10 ccm Diphtherietoxin (auf 100 ccm verdünnt) durch ein 2,25%-Filter bei 0,3 Atmosphären, das Hämoglobinlösung vollständig durchließ.

1. Fraktion 40 ccm	verworfen.
2. Fraktion 40 ccm	0,004 ccm tot nach 3 Tagen,
Rückstand 20 ccm,	0,004 ccm tot nach 5 Tagen.

Somit hat das Filtrat keine in Betracht kommende Abschwächung, der Rückstand keine Konzentrationerfahren, d. h. das Toxin ist im großen ganzen unverändert durch das Filter gegangen.

Eine Filtration durch ein 2,5%-Filter, bei 0,4 Atmosphären, das nur Spuren Hämoglobin passieren läßt, ergab folgendes:

1. Fraktion 40 ccm und 2. Fraktion 31 ccm verworfen.

3. Fraktion 18 ccm.

0,017 ccm tot nach 5 Tagen,
0,017 „ „ „ 4 „
0,0076 „ nach 25 Tagen verheilt,

Rückstand 10 ccm.

0,0017 ccm tot nach 2 Tagen
0,0017 „ „ „ 2 „
0,0008 „ „ „ 4 „
0,0004 „ „ „ 23 „ verheilt.

Es war somit eine bedeutende Verdünnung des Filtrats und eine entsprechende Konzentration des Rückstandes erfolgt.

Auch beim einstündigen Schütteln von hundertfach verdünntem Diphtherietoxin (15 ccm) mit 0,5 g Eisessigkollodium und 10% Gelatine in 4% Formol gehärtet, konnte nicht konstatiert werden, daß eine bemerkenswerte Adsorption stattgefunden hatte[1]).

Adsorption in Mischungen.

Weit einflußreicher als das Filtermaterial kann die Gegenwart von adsorbierenden Stoffen in der zu filtrierenden Flüssigkeit sein. Bisher konnte man derartige Bestimmungen nur mit festen Stoffen machen: man beobachtete, wieviel Farbstoff einer Lösung durch die Gespinstfaser entzogen wird, wieviel Globulin oder Ricin beim Schütteln mit Kaolin in der Lösung verbleibt usf. Es sind mir jedoch keine Versuche bekannt, welche die Adsorption zwischen zwei gelösten Stoffen behandeln, also z. B. zwischen gelöstem Albumin und einem Farbstoff oder Toxin oder dergleichen. Derartige Versuche wären auch bisher unmöglich gewesen, während das Filtrationsverfahren einige Einblicke gewährt.

Ich habe versucht, die Adsorption in einem solchen Fall quantitativ zu verfolgen, und wählte als adsorbierendes, gelöstes Kolloid dialysiertes und durch ein gehärtetes Filter filtriertes Pferdeserum (*PS*), mit einem Gehalt von 2,2% Serumalbumin, als Krystalloid Methylenblau (zinkfrei) (*Mb*) in einer Konzentration von 0,25%. Methylenblau ist ein typisches Krystalloid, das leicht filtriert und diffundiert.

Die Mischung wurde zunehmend mit Wasser verdünnt und jede Verdünnung durch ein Filter filtriert, welches das Serum vollkommen zurückhielt, das Methylenblau aber durchließ. Auf die Einzelheiten des Versuchs nebst Korrekturen will ich hier nicht näher eingehen, sondern nur die wesentlichen Resultate mitteilen. In nachstehender Tabelle bedeutet v die Verdünnung der Original-, Pferdeserum- (*PS*) und Methylenblau (*Mb*)-Lösung.

---

[1]) Die Filtration von Diphtherietoxin allein und in Mischung mit Antitoxin wird weiter verfolgt.

Filterinhalt: $v\, PS + v\, Mb$	Filtrat: $v\, Mb$
2	7
4	8
8	12
16	23
32	35

Wir sehen hier Verhältnisse, wie sie typisch sind für jede Adsorption: in konzentriertem Serum starke Adsorption des Methylenblau, während mit zunehmender Verdünnung Aufspaltung eingetreten ist[1]).

Ein qualitativ ähnliches Resultat bot auch ein Färbeversuch: Es wurden eine Stunde lang mit je 1 m Wolle geschüttelt:

1. 20 ccm Methylenblau 0,25% + 20 ccm Wasser
2. 20 ccm „ 0,25% + 20 ccm dialysiertes Serum.

In 1. war die Wolle dunkler gefärbt, als in 2.

Darauf wurden 1. und 2. je vierfach mit Wasser verdünnt und in gleicher Weise mit Wolle geschüttelt. Nun war in der Färbung der beiden Wollproben kein Unterschied mehr zu erkennen.

Wir wollen die weiteren Ergebnisse unserer Untersuchungen von dem Gesichtspunkte betrachten, welche Bedeutung der Adsorption bei Gemischen von kolloiden und krystalloiden Stoffen für die Filtration zuzuschreiben ist.

Mischungen von Kolloiden.

Anorganische Kolloide: Es wurden Mischungen in solchen Verhältnissen hergestellt, daß sie nicht ausflocken und durch Filtrationsversuche festgestellt, ob eine Adsorption der beiden Kolloide in der klaren Lösung erfolgt ist oder nicht.

---

[1]) Diese Spaltung bei der Verdünnung dürfte für die Erklärung mancher Vorgänge in der Immunitätslehre von Bedeutung sein. Ich mache auf die interessanten Versuche von von Liebermann aufmerksam, wonach die hämolytische Wirkung eines Normalserums, welches man einer konstanten Menge inaktivierten Immunserums zufügt, bedeutend gesteigert wird, wenn das Normalserum verdünnt wird. (Diese Zeitschr. **4**, 25 ff. 1907).

Kolloides Arsensulfid und kolloides Berlinerblau — die Mischung der beiden Lösungen ist smaragdgrün und klar.

Trotzdem beide Kolloide anodisch wandern, hat eine Adsorption der kleineren Arsensulfidteilchen durch die größeren Berlinerblauteilchen stattgefunden.

Kolloides Arsensulfid und Eisenoxyd. Durch Eingießen von kolloidalem Arsensulfid in kolloidales Eisenoxyd in geeignetem Verhältnis (da sonst Fällung eintritt) erhält man eine klare Mischung, deren Filtrat durch ein geeignetes Filter sowohl Fe_2O_3, als auch As_2S_3 enthält.

Trotzdem Arsensulfid anodisch, Eisenoxyd kathodisch wandert, hatte keine derartige gegenseitige Adsorption stattgefunden, daß infolge Vergröberung der Teilchen das Filter ganz unpassierbar gewesen wäre.

Berlinerblau und Eisenoxyd. Eine klare grüne Mischung erhält man durch Eingießen von Berlinerblau in Eisenoxyd (umgekehrt trat Fällung ein).

Das Filtrat dieser Mischung durch obiges Filter enthält überschüssiges Eisenoxyd, aber kein Berlinerblau.

Während die ursprüngliche Mischung von Berlinerblau und Eisenoxyd nach 24 Stunden unverändert geblieben, war der entsprechend verdünnte Rückstand der Mischung, von der ein Überschuß an Eisenoxyd abfiltriert war, nach 24 Stunden größtenteils ausgeflockt. Offenbar hatte hier das überschüssige Eisenoxyd als Schutzkolloid für die instabile Mischung Eisenoxyd (+) mit Berlinerblau (—) gedient.

So viel lassen die wenigen Versuche bereits erkennen, daß es sich hier nicht nur darum handelt, ob die Bestandteile + oder — geladen sind, sondern daß auch Größen- und spezifische Adsorptionseigenschaften der Teilchen eine Rolle spielen, sonst wäre es nicht verständlich, warum die beiden gleichsinnig geladenen Kolloide Arsensulfid und Berlinerblau bei der Konzentration durch Filtration sofort ausflocken, während die Mischung von As_2S_3 und Fe_2O_3, die entgegengesetzt geladen sind, unter gleichen Verhältnissen für einige Zeit stabil sind. Auch die Tatsache, daß kolloides Fe_2O_3, welches in Viskosität und der Eigenschaft seines Gel den organischen Kolloiden, wie Eiweiß und Gelatine, weit näher steht als den meisten übrigen anorganischen Kolloiden — die Tatsache eben, daß Fe_2O_3 als Schutzkolloid wirken kann, ist bemerkenswert.

Die Mischungen von *anorganischen* mit *organischen Kolloiden* sind bereits S. 398 erwähnt, es findet offenbar eine gewisse Adsorption des organischen Kolloids durch das anorganische statt, wobei das erstere als Schutzkolloid (Umhüllung) wirkt. — Ferner ist bereits auf die Filtration von *Albumosenmischungen* S. 392 hingewiesen. Nur noch einige Beispiele aus dem Gebiet der *organischen Kolloide* seien hier als Ergänzung angeführt:

Globulin. — Die Globuline sind Proteine, welche in Wasser unlöslich, in verdünnten Salzlösungen löslich sind. Durch Dialyse kann man die Salze aus der Globulinlösung entfernen, das Globulin bleibt dann im Dialysator ungelöst zurück.

Zur Prüfung, ob das gleiche Resultat durch Filtration erreicht werden kann, wurde Serumglobin in Kochsalzlösung gelöst und durch ein Filter, das kein Eiweiß durchläßt, filtriert. Der Filterrückstand war eine weiße, undurchsichtige Emulsion, die sich bei Zugabe von Kochsalz löste. Es war also durch Filtration Analoges erreicht wie durch Dialyse.

Albumosen und Dextrin. In einer Lösung von Wittepepton (Albumosen) und Dextrin läßt sich letzteres selbst noch in sehr starker Verdünnung leicht durch Jod nachweisen, es gibt damit *vorübergehend* eine Blau-Violettfärbung. — Eine Lösung mit einem Gehalt von 5% Dextrin und 10% Wittepepton wurde erst durch ein 5% v (H 3,5% v)-Filter, das Filtrat dann durch ein 10% v (H 3,5% v)-Filter filtriert. — Das 5% v-Filter läßt noch einen Anteil der Deuteroalbumosenfraktion durch und gibt mit Jod noch Spuren einer Blaufärbung. Das Filtrat durch das 10% v-Filter, welches eine reine Dextrinlösung teilweise passieren läßt, enthielt noch geringe Mengen Deuteroalbumosen C, die nur noch durch 100% Sättigung mit Ammoniumsulfat unter Säurezusatz gefällt werden. Das Filtrat enthielt indessen *kein Dextrin* mehr. Dieses war somit von den Albumosen adsorbiert worden.

Albumosen, Dextrin und salicylsaures Natrium. Eine Lösung mit einem Gehalt von 10% Albumosen (Wittepepton), 5% Dextrin und 5% salicylsaurem Natrium wurde zuerst durch ein 5% v H(4% v)- und das Filtrat durch ein 10% v (H 4% v)-Filter filtriert. Das Filtrat enthielt, wie zu erwarten, kein Dextrin, wohl aber salicylsaures Natrium (Nachweis durch

Violettfärbung mit $FeCl_3$). Das salicylsaure Natrium war somit nicht vollkommen adsorbiert worden.

Mit Hinblick auf die Anwendbarkeit der Filtriermethode in der Eiweißchemie war es von Interesse, ob eine Trennung von Aminosäuren und kolloiden Produkten möglich ist. Ich nahm daher die Trennung eines Gemisches von:

Gelatine und Glykokoll vor. 100 ccm einer Lösung mit einem Gehalt von 1% Gelatine und 2% Glykokoll wurden zunächst bei zwei Atmosphären durch ein 4% *v* (*H* 4% *v*)- und dann 60 ccm Filtrat davon noch durch ein 10% *v* (*H* 4% *v*)-Filter bei fünf Atmosphären filtriert. — Das Filtrat enthielt keine Spur Gelatine. Die Trockengewichtsbestimmung ergab für:

20 ccm Filtrat	0,387 g	Glykokoll, somit
100 „ „	1,935 g	„
Verlust	0,065 g	„
	2,000 g	Glykokoll.

Es waren somit nur 3,25% Verlust, trotzdem Filtrans und Filter nicht nachgewaschen waren. Die Trennung durch Filtration ist somit eine sehr vollständige.

Verdauungsprodukte des Caseins. Es wurden 114 g Casein (Hammarsten von Merck) 72 Stunden mit Pankreatin pur. (Rhenania) und Na_2CO_3 verdaut, das ausgeschiedene Tyrosin durch gewöhnliches Filter abfiltriert und das Filtrat geteilt.

Der eine Teil *A* wurde 8×24 Stunden in vier Fischblasen dialysiert, der andere Teil *B* wurde erst durch 4,5% *v*, dann durch 10% *v*-Filter filtriert. — Es haben passiert:

die Dialysiermembran 63% des Gesamtgehaltes an festen Stoffen,
„ Filtrationsmembran 68% „ „ „ „ „ .

Herr Dr. Abderhalden (Berlin) hatte die große Liebenswürdigkeit, die weitere Untersuchung der beiden Produkte vorzunehmen. Beide enthielten noch etwas Albumosen (starke Trübung mit Ammoniumsulfat); das Dialysat etwas weniger als das Filtrat.

Als Maß für die durchgelassenen Aminosäuren bestimmte Herr Dr. Abderhalden die Glutaminsäure als Chlorhydrat und fand:

für das Dialysat 6,8 g Glutaminsäurechlorhydrat
„ „ Filtrat 7,0 g „

Auch die Gesamtmenge an Aminosäuren, bestimmt nach der Estermethode bei 100° Wasserbad und 12 mm Druck, ergab für Dialysat und Filtrat ganz ähnliche Werte. — Man kann somit sagen, daß hier durch Dialyse und Filtration dasselbe erreicht ist.

Milch (Ziegenmilch). — Die feinsten Filterkerzen, wie z. B. die Chamberlandkerzen, erlauben keine Trennung der mikroskopischen Fetttröpfchen von der übrigen Flüssigkeit, man erhält stets als Filtrat eine milchige Emulsion. — Vollmilch filtriert durch Eisessigkollodiumfilter ungemein schwer. Trotz Rühren filtrierten durch ein 3%-Filter bei zwei Atmosphären nur ca. 1 ccm in je 10 Minuten. Das Filtrat enthält neben Salzen und Zucker Spuren eines Proteins, das durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung, sowie durch Gerbsäure gefällt wird.

Magermilch (durch 30 Minuten langes Zentrifugieren von Vollmilch erhalten). Ohne Rühren erfolgt die Filtration ungemein langsam. Ein 2% (*H* 2,5%)-Filter läßt bei 1,2 Atmosphären anfangs eine etwas getrübte Flüssigkeit durch; nach und nach wird das Filtrat vollkommen klar. Das Filtrat enthält neben Zucker und Salzen etwas Albumin, hingegen kein oder fast kein Casein. — Auf dem Filter hat sich eine schleimige Masse abgesetzt, die das Filter verstopft: es ist das Casein, das offenbar durch die Molken nur in kolloider Suspension in Lösung gehalten, nicht aber als echtes Salz gelöst ist, denn sonst wäre es nicht verständlich, wie man durch bloße Filtration die Bestandteile des Salzes voneinander trennen kann. — Der Caseinniederschlag auf dem Filter gibt beim Eintrocknen eine celluloidartige Masse, die in Wasser unlöslich, in Alkali löslich ist.

Sehr viel rascher erfolgt die Filtration unter Rühren.

Das Filtrat war wieder eine fast klare Flüssigkeit; der Filterinhalt aber vollkommen flüssig, ohne den geringsten Niederschlag von Casein auf dem Filter.

Filtration oder Dialyse?

Es liegt die Frage nahe, ob man auf Grund der vorigen Darlegungen die Dialyse durch die Filtration ersetzen soll. Eine Antwort mit Ja oder Nein läßt sich hierauf nicht geben; man muß vielmehr von Fall zu Fall wählen. — Zunächst muß betont

werden, daß Filtration und Dialyse nicht dasselbe sind, daß sie sich auch im Effekt unterscheiden. Die angeführten Beispiele der Trennung des Globulins von lösendem Kochsalz, von Glykokoll und Gelatine, sowie der Casein-Verdauungsfraktionen zeigen, daß sich in diesen Fällen die Dialyse sehr gut durch die Filtration ersetzen läßt. — Hingegen kann man in Oxalsäure gelöstes Berlinerblau nicht durch Filtration von der Oxalsäure befreien, was durch Dialyse wohl möglich ist.

Soweit man überhaupt verallgemeinern kann, soweit also nach beiden Methoden das Gleiche zu erzielen ist, wird die Filtration da den Vorzug verdienen, wo man auf das kolloidfreie Filtrat ausgeht, das man sofort in einer konzentrierten Form erhält, während die Dialyse stets sehr verdünnte Lösungen bietet. Die Dialyse wird vielleicht eher da anzuwenden sein, wo man den kolloiden Anteil möglichst krystalloidfrei haben will und in der Lage ist, mit fließendem Wasser zu arbeiten, zumal wenn das Kolloid sehr viskös ist. Dieser Vorteil fällt aber auch nur dann ins Gewicht, wenn es einem auf erhebliche Verdünnung des Schlauchinhaltes nicht ankommt. Der große Vorzug bei der Filtrationsmethode besteht eben darin, daß die Lösungen bei den Versuchen sich nicht verdünnen, ja daß man sie teilweise durch die Methode ohne Temperaturerhöhung konzentrieren kann, ein Vorzug, der bei biochemischen Versuchen sehr ins Gewicht fällt. Ein weiterer Vorteil ist die leichte Sterilisierbarkeit und Sterilhaltbarkeit des Apparates und Filtrats.

Es wäre jedoch vollkommen irrtümlich, wenn man den Wert der Filtrationsmethode an der Dialysiermethode bemessen oder mit ihr vergleichen wollte. Sie leistet ja vielfach etwas anderes, etwas Neues. Wir haben z. B. gesehen, daß man die verschiedenen Albumosen durch fraktionierte Filtration voneinander scheiden kann, was durch Dialyse überhaupt nicht möglich. Daß sie auch die Lösung mancher Probleme ermöglicht, von denen einige angedeutet wurden. Diese erreicht sie durch die Möglichkeit einer beliebig feinen Abstufbarkeit der Filterdichte. Die Filtration soll und kann somit die Dialyse nicht verdrängen, sondern mag sich einen Platz neben ihr suchen unter den Methoden des Chemikers und Biologen.

Als Beispiel für solche

praktische Anwendungen in der Biochemie

mag dienen, daß man durch Ultrafiltration nicht nur steriles Wasser, sondern auch ein sehr geeignetes Wasser für ultramikroskopische Zwecke herstellen kann. — Ein anderes Beispiel habe ich kürzlich in der „Zeitschr. für physiol. Chemie"[1]) veröffentlicht.

In einer im vorigen Jahr erschienenen Arbeit[2]) war eine Anzahl neuer Desinfektionsmittel beschrieben worden, die auf eine Reihe von pathogenen Bakterien eine eminente Desinfektionskraft ausüben. Es waren darunter solche, die noch in einer Verdünnung von über einer halben Million Bouillonkulturen von Diphtheriebacillen in der Entwicklung hemmten. Diese Substanzen hatten gleichzeitig den Vorzug, praktisch sehr wenig giftig zu sein, so daß es möglich war, dem Tierkörper ohne Schaden Dosen einzuverleiben, von denen schon weniger als der hundertste Teil genügt haben würde, die Bakterien in vitro in der Weiterentwicklung zu hemmen, bzw. in 24 Stunden sogar abzutöten. Dies reizte natürlich sehr, auch Desinfektionsversuche im Tierkörper vorzunehmen, d. h. z. B. mit Diphtheriebacillen infizierte Tiere durch Einspritzung dieser Desinfizientia zu desinfizieren, also zu heilen. Merkwürdigerweise blieb jeder Erfolg aus, und es zeigte sich auch, daß, wenn man die betreffenden Bacillen in Serum, statt in Bouillon züchtete, jene Desinfektionsmittel in ihrer Wirkung außerordentlich geschwächt wurden. Während z. B. Tetrachlor-o-biphenol noch in einer Verdünnung von 1 : 320 000 jede Entwicklung von Diphtheriebacillen in Bouillonkultur hinderte, entwickelten sich in einer Serumkultur bei Verdünnung des genannten Desinfiziens auf nur 1 : 10 000 immer noch vereinzelte Kolonien. Man konnte nun im Zweifel sein, ob lediglich die viel günstigeren Lebensbedingungen der Bakterien in dem dem lebenden Organismus entnommenen Serum dieses Resultat zur Folge hatte, oder ob chemische, bzw. physikalisch-chemische Gründe dies bedingten.

---

[1]) Zur „Inneren Antisepsis" **52**, 177—180.

[2]) Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung von Dr. H. Bechhold und Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Paul Ehrlich (Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 173—199).

Ich habe nun mittels der Filtrationsmethode geprüft, ob vielleicht die festen Bestandteile des Serums, das Albumin, Globulin usw. das Desinfiziens binden, ob also vielleicht im Serum nur geringe Mengen Desinfiziens disponibel sind, so gering, daß sie den Bakterien nicht schaden können. — Zu dem Zweck stellte ich Serumlösung her, welche einen Gehalt von 1% Tetrachlor-o-biphenol enthielt[1]), und filtrierte diese durch ein Filter, welches die Eiweißkörper vollkommen zurückhielt, während es das Tetrachlor-o-biphenol passieren ließ. Zur Kontrolle wurde eine 1 prozentige Tetrachlor-o-biphenollösung vorher durch das gleiche Filter filtriert.

Während nun die wässerige Tetrachlor-o-biphenollösung im Filter einen Verlust von nur 22% erlitt, trat bei der serumhaltigen Lösung ein Verlust von 87,5% ein.

Der Verlust stellt sich vielleicht noch etwas höher, da ja das Filter von der vorherigen wässerigen Filtration noch etwas Tetrachlor-o-biphenol abgeben mochte.

Es waren somit in dem Serum mit einem Gehalt von 1% Tetrachlor-o-biphenol in Wirklichkeit nur eine ca. 1promille-Lösung für die Desinfektion disponibel. Da nun bei allen Adsorptionen die Kurve derart verläuft, daß bei gleichbleibender Menge des Adsorbens und abnehmender Menge der adsorbierten Substanz die absolute adsorbierte Menge zwar ab, die relative adsorbierte Menge aber zunimmt, so kann es kommen, daß bereits in einem Vollserum, welchem 1 : 10 000 Desinfiziens zugesetzt ist, praktisch die gesamte Menge des Desinfiziens vom Serum mit Beschlag belegt ist.

Es ist somit sicher, daß in erster Linie chemische oder physikalisch-chemische Ursachen, nämlich die Bindung des Desinfiziens durch das Blutserum, die Herabsetzung der Desinfektionswirkung im Organismus bedingten; rein biologische Begünstigung des Bakterienwachstums durch bessere Lebensbedingungen spielt, wenn überhaupt vorhanden, nur eine nebensächliche Rolle.

Bei einer neuen Methode ist es vor allem notwendig, ihre Anwendbarkeit festzustellen, ihre Grenzen abzustecken. Das habe

[1]) Ich verdanke die Substanz Herrn Prof. Dr. Diels.

ich versucht und es war demgemäß nicht möglich, die verschiedenen Fragen bis ins einzelne zu verfolgen, auch würde dazu eine größere Anzahl von Hilfskräften erforderlich sein, die mir leider fehlen.

Allerdings läßt sich unmöglich voraussagen, welche Anwendung Wissenschaft und Technik von der neuen Methode machen werden; manche, die sich mit einem Problem beschäftigen, werden versuchen, auf dem neuen Weg zu ihrem Ziel zu gelangen. Einigen Industrien ist damit vielleicht ein Hilfsmittel gegeben zur besseren technischen Erkenntnis und zur analytischen Verfolgung der Vorgänge im Fabrikbetrieb, beispielsweise sei die Seifen-, Gerbstoff-, Kautschukindustrie erwähnt. Für den öffentlichen Chemiker dürfte sich die Ausbildung des Verfahrens zu „Schnellmethoden" empfehlen behufs Bestimmung der krystalloiden bzw. kolloiden Bestandteile (in Bier, Extrakten, Abwasser usw.). Nach meinen Filtrationsversuchen mit Bier (Frankfurter Bürgerbräu hell) enthielt dies an Proteinen in der Hauptsache Albumine, nur wenig Albumosen, möglicherweise wenig Peptone. Es steht dies nicht recht in Übereinstimmung mit den Angaben von Grießmayer[1]), wo bei Bier nur von Peptonen die Rede ist.

Den Hauptnutzen dürfte meines Erachtens die biologische und medizinische Chemie ziehen. Die Frage der Zuckerbindung im Blut ist vielleicht einer entscheidenden Beantwortung zugänglich. Gerade in der neuesten Zeit beschäftigt man sich viel mit den nicht dialysabeln Stoffen des Harns; ihre Gewinnung und Trennung scheint mir auf dem angedeuteten Weg besonders empfehlenswert. Auch die viel diskutierte Filterwirkung der Nieren mag einer leichteren experimentellen Nachprüfung zugänglich sein. Zur Trennung von Organflüssigkeiten, zur Konzentration wirksamer Substanzen (auch Heilsera) ist hier ein neues Werkzeug in die Hand gegeben. Besonders aber sei auf ein Gebiet hingewiesen: auf die filtrierbaren Infektionserreger. Es gibt einige Krankheitserreger, die alle bisherigen Filter passieren; ich nenne unter anderen den Erreger der Maul- und Klauenseuche, des gelben Fiebers, der Pocken, Hundswut,

---

[1]) Vgl. Elsner, Praxis des Chemikers. 8. Aufl. 1907, 407 u. 431.

Rinderpest, der Mosaikkrankheit des Tabaks[1]). Die Ultrafiltration dürfte wohl geeignet sein, solche kleinste Mikroorganismen durch fraktionierte Filtration zu scheiden und bei gleichzeitiger Verwendung des Ultramikroskops rein zu züchten, ja man könnte sogar möglicherweise das Ultrafilter selbst zur Züchtung verwenden.

Nur mit wenigen Strichen konnte ich hier einige Fragen andeuten, die nun wohl der Beantwortung zugänglich sind, und es wäre mir eine Genugtuung, wenn von recht vielen Seiten die Bearbeitung in Angriff genommen würde.

---

[1]) Vgl. Roux, Bull. de l'Inst. Pasteur 1, 1903, 28. Februar und 15. März. — Remlinger, les microbes filtrants, ebenda 4, 337—345 u. 385—392.

Über das Vorkommen von oxydativen Fermenten in den reifen Geschlechtszellen von Amphibien und über die Rolle dieser Fermente bei den Vorgängen der Entwicklungserregung.

Von

Wolfgang Ostwald.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 24. September 1907.)

I. Einleitung. Methodisches.

Während einer ausführlichen Untersuchung über etwaige physikalisch-chemische Grundlagen der heliotropischen Erscheinungen der Tiere stellte es sich heraus, daß alle daraufhin untersuchten Organismen oxydative Fermente von wenigstens zweierlei Art enthielten, Fermente, deren Vorkommen und Verteilung je nach der Positivität oder Negativität des Heliotropismus sehr stark wechselte und deren Verhalten insbesondere gegen Licht, Temperatur, chemische Agenzien usw., sowie auch während der Lebenszeit der betreffenden Tiere charakteristische Verschiedenheiten aufwies. Da ein ausführlicher Bericht über diese Untersuchungen demnächst erscheinen wird, sehe ich von allen näheren Angaben über das Vorkommen und die Eigenschaften dieser Oxydasen hier ab. Nur die allgemeine Feststellung sei hier gegeben, daß von den untersuchten Fermenten zwei sich durch sehr allgemeine Verbreitung und durch eine besonders auffällige Korrespondenz mit den biologischen Erscheinungen auszeichneten, deren allgemeine Eigenschaften sich auch für die folgenden Versuche und Überlegungen von Wichtigkeit erwiesen haben und darum hier kurz berücksichtigt werden sollen.

Das eine dieser Fermente ist bereits öfters bei höheren und niederen Tieren wie Pflanzen nachgewiesen worden; es ist das-

jenige, welches die bekannte Oxydation des Guajac-Harzes resp. der Guajaconsäure (Schaer) verursacht. Es wird dabei in der Literatur[1]), insbesondere nach dem Vorgange von Grüß[2]) und Bourquelot[3]), meist unterschieden zwischen zwei oder drei Arten Guajac bläuender Oxydasen oder „Peroxydasen", von denen die eine diese Reaktion nur in Gegenwart von H_2O_2, die andere ohne Mitwirken des letzteren geben soll; die ersteren sind als indirekte, die letzteren als direkte Oxydasen bezeichnet worden. Ferner unterschied Grüß nach dem Verhalten gegen Temperatur und nach dem verschieden stark schädigenden Einfluß von Alkohol α-, β- und γ-Oxydasen. Indessen werden die meisten Forscher, die sich selbst mit diesen zwei oder drei Formen von Peroxydasen beschäftigt haben, darin übereinstimmen, daß die Verschiedenheiten derselben zum Teil noch sehr unbestimmt und unklar sind, und daß insbesondere ein Versuch, z. B. aus einem Gewebeextrakt direkte und indirekte Peroxydasen zu trennen, auch bei Beachtung der Grüßschen Vorschriften nicht immer erfolgreich und eindeutig ist. Berücksichtigt man z. B., daß, wie ich regelmäßig gefunden habe, ein Gewebeextrakt mit direkten Oxydasen immer auch eine Guajacreaktion mit H_2O_2 gibt, ferner daß es z. B. Gewebeextrakte gibt, welche frisch keine direkte Guajacreaktion, nach längerem Stehen dieselbe aber in ausgeprägtester Weise zeigen, so ersieht man, wie dringend nötig eine schärfere Revision der Eigenschaften und Verschiedenheiten dieser Peroxydase resp. ihrer zwei bis drei Formen ist. Mit größter Annäherung an die experimentellen Befunde stellt meiner Ansicht nach die Einteilung von Bach und Chodat[4]) die vorliegenden komplizierten Verhältnisse dar; bekanntlich unterscheiden diese Forscher peroxydähnliche Stoffe (Oxygenasen) und echte oxydierende Fermente (Peroxydasen), deren Mischung z. B. die als direkte Oxydasen bezeichneten Enzymlösungen ergeben soll. Abgesehen davon, daß sich diese Untersuchungen von Bach und Chodat zunächst nur auf pflanzliche Fermente beziehen, bleiben indessen noch eine Anzahl Punkte

[1]) Siehe z. B. Oppenheimer, Fermente, 2. Aufl., 349ff., 356ff., 368ff.

[2]) Grüß, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **16**, 129ff., 1898.

[3]) Bourquelot, Compt. rend. de la soc. de Biol., Paris, **49**, 402ff., 1899.

[4]) Bach und Chodat, Biochem. Centralbl. **1**, 417 u. 457, 1903.

auch im Sinne dieser Auffassung aufzuklären, so z. B. die Veränderungen, welche der eine oder der andere dieser Stoffe bei längerem Stehen an der Luft erleidet, und welche einen genetischen Zusammenhang zwischen beiderlei Stoffen vermuten lassen; ferner, mit Berücksichtigung des dritten, wahrscheinlich regelmäßig gleichzeitig vorhandenen Fermentes, der Katalase, die sicher vorhandenen Wechselwirkungen dieser drei Stoffe usw. Indessen beabsichtige ich nicht auf diese Verhältnisse hier einzugehen; ich bemerke, daß ich in den im folgenden beschriebenen Versuchen, sowie auch bei meinen heliotropischen Untersuchungen in der Regel nur die direkten Peroxydasen, d. h. Guajacreaktionen ohne H_2O_2 in Betracht gezogen habe, da mir diese Reaktionen resp. die sie veranlassenden Fermente am schärfsten definiert erschienen; ich fand aber, daß durch Hinzufügen von wenig H_2O_2 jedesmal eine Verstärkung der Reaktion eintrat. Über die dabei eingehaltenen Versuchsbedingungen wird weiter unten berichtet werden.

Was das Vorkommen und die Verbreitung dieser Guajacoxydase anbetrifft, so sind. abgesehen von den bekannten älteren Untersuchungen von Schönbein, Traube, A. Schmidt und seinen Schülern, den neueren von Jakobsen, Senter (an Blut), Pfeffer, Schaer, Grüß, Raciborski, Loew, Aso (an Pflanzengeweben und -extrakten), in diesem Zusammenhange insbesondere die Arbeiten einiger französischer Forscher (Giard, Piéri und Portier, Abelous und Biarnès, Hugounencq und Paviot[1])) sowie die schöne Untersuchung von Biedermann[2]) zu nennen. In diesen Arbeiten wurde die Verbreitung dieser oxydativen Fermente bei einer ganzen Anzahl niederer Tiere festgestellt. Ich habe diese Oxydase gefunden wie Biedermann im Darminhalt, aber auch im Chloroformwasserextrakt des übrigen Körpers hungernder Mehlwürmer, in den Extrakten aus den Därmen und Körpern vieler überwinternder Wasserinsekten und ihren Larven, ferner in niederen Crustaceen, in den Extrakten verschiedener Raupen, speziell nach Belichtung derselben usw. Aus diesen Beispielen, welche noch beliebig vermehrt werden könnten, bestätigt sich die auch schon von andern Forschern vermutete weite Verbreitung dieses Fermentes.

[1]) Siehe die Literatur in Oppenheimer, Fermente 354, sowie in von Fürth, vgl. chem. Physiol. d. nied. Tiere 1903, 93, 94.

[2]) Biedermann, Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 105, 1898.

Von einigen allgemeinen Eigenschaften dieser Oxydase sei der Umstand angeführt, daß sich dieselbe in allen von mir untersuchten Fällen bei Belichtung, und zwar sowohl im lebenden Körper (Raupen), als auch im Gewebeextrakt, vermehrt oder vielleicht auch aktiviert. Ich habe das gleiche Verhalten auch bei der Guajacperoxydase, die sich in den Extrakten geschlechtsreifer Amphibienhoden und -eier vorfindet, konstatieren können. Dabei wirkt violettes Licht wie weißes viel stärker begünstigend als gelbes[1]), das sich wie Dunkelheit verhält. Ferner sei hervorgehoben, daß KCN in verdünnter Lösung $\left(\text{ca. } \frac{m}{1000} \text{und darunter}\right)$ die Guajacbläuung nicht zu hindern scheint, obwohl die Färbung mit KCN einen etwas grüneren Ton ergibt als die Reaktion ohne KCN[2]).

---

[1]) Als Lichtfilter wurden Lösungen von Methylviolett und Kaliumbichromat verwendet.

[2]) Ein sehr merkwürdiges Verhalten ergibt sich, wenn man den Einfluß von KCN auf die Guajacoxydation durch ein typisches organisches Peroxyd, z. B. Benzoylsuperoxyd untersucht. Es zeigt sich nämlich, daß KCN auch in größeren Mengen zunächst die Reaktion begünstigt, insofern als die Bläuung deutlich schneller und stärker eintritt. Und zwar handelt es sich dabei zuerst um eine Vertiefung des reinen Blaus oxydierter Guajaconsäure, die sich bis zu einer vollkommenen Schwärzung der Lösung erstrecken kann. Dann findet jedoch eine Farbenänderung statt insofern, als das Blau grünlicher wird und sich aufhellt, bis nach einiger Zeit die Lösung fast gelb wird. Diese gelbe Farbe, die aus verschiedenen Gründen als die Farbe eines Reduktionsproduktes anzusprechen ist, erhält man sofort bei Zusatz von KCN ohne Superoxyd zu einer alkoholischen Guajaclösung. Bei Verwendung sehr geringer Mengen von KCN bleibt übrigens sehr lange eine blaugrüne Färbung bestehen. Ich habe für dieses merkwürdige Verhalten in der Literatur bisher keine Belege finden können, und muß es daher hingestellt sein lassen, ob es sich hier um eine wirkliche anfängliche Beschleunigung, z. B. durch gleichzeitige Reduktion und Bildung von Superoxyden aus dem Guajac-Harz, welch letztere beim Fortschreiten der Reaktion ebenfalls noch reduziert werden, handelt. Daß übrigens die Gegenwart von Cyanverbindungen nicht die Bildung von Peroxyden speziell von Wasserstoffperoxyd hindert, geht aus den Versuchen von Manchot (zit. nach Engler und Weißberg, l. c. S. 102ff.) über die Umwandlung von Kobaltocyankalium (Kobaltsulfat und Cyankalium) zu Kobalicyankalium hervor. Während dieser Reaktion wird nämlich doppelt soviel Sauerstoff aus der Luft absorbiert, als zur Überführung nötig ist, und zwar läßt sich dieser überschüssige Sauerstoff in der Oxydationsflüssigkeit in Form von Wasserstoffperoxyd deutlich mittels Chromsäure und Äther nachweisen.

Die Frage nach der chemischen Natur dieses Fermentes resp. Fermentgemisches hat ein besonderes Interesse darum, weil eine Reihe von Gründen dafür spricht, daß wir es hier gar nicht mit einem Ferment im gewöhnlichen Sinne, sondern mit einem unbeständigen Peroxyd selbst zu tun haben. So fassen ja bekanntlich Bach und Chodat den einen durch fraktionierte Alkoholfällung trennbaren Gemengteil, die „Oxygenase", als Peroxyd auf. Insbesondere aber seien die Versuche von Kastle und Loevenhart[1]) angeführt, welche fanden, daß typische organische und anorganische Superoxyde ganz dieselben Guajacreaktionen (auch ohne H_2O_2) ergaben. Ich habe diese Versuche mit Benzoylsuperoxyd mit gleichem Erfolge wiederholt. Sodann möchte ich auf die von mir gefundene Vermehrung resp. Aktivierung der Guajacoxydase durch Beleuchtung hinweisen, insofern als das Auftreten oder die Vermehrung von Peroxyden bei Bestrahlung an einer großen Reihe von organischen Substanzen (z. B. Terpentinöl, Äther, Amylalkohol usw.)[2]) festgestellt worden ist.

Das zweite oxydative Ferment, das ich in noch größerer Verbreitung in den Extrakten niederer Tiere zu finden vermochte, war das von Loew bekanntlich als Katalase bezeichnete H_2O_2 zersetzende Enzym. Daß die Eigenschaft, H_2O_2 zu zersetzen, in der Tat einem speziellen Ferment zuzuschreiben ist, und nicht, wie die älteren Autoren es glaubten, eine allgemeine Eigentümlichkeit aller Fermente darstellt, geht besonders aus den Arbeiten von Jakobsen[3]) und Senter[4]) hervor, welche auf verschiedene Weise eine Trennung der Katalase von den übrigen gleichzeitig im Extrakt vorhandenen spezifischen Fermenten bewerkstelligen konnten. Studiert wurde dieses Ferment bekanntlich schon von Thénard, Schönbein, Traube, A. Schmidt und seinen Schülern, ferner von Gottstein, Spitzer, Raudnitz, Loew,

---

[1]) Kastle und Loevenhart, Amer. J. Chem. Soc. **26**, 539ff., 1903; ferner auch Engler und Wöhler, Zeitschr. f. anorgan. Chem. **29**, 1ff., 1902.

[2]) Siehe Literatur in Engler und Weißberg, Vorgänge der Autoxydation 1904, 178f. usw.; ferner Eder, Handb. d. Photographie **1**, 2. Teil; Photochemie 1906, 111ff., 347ff. usw.

[3]) Jakobsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 340ff., 1895.

[4]) Senter, Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 257ff., 1903.

Cotton, Jakobsen, Ville und Moitessier[1]), und in neuerer Zeit insbesondere von Senter und Issajew[2]). Während Senter sich mit der Blutkatalase von physikalisch-chemischem Gesichtspunkte aus beschäftigte, wurde von Issajew eine entsprechende reaktionskinetische Untersuchung der Hefekatalase unternommen, so daß wir über die Eigenschaften tierischer und pflanzlicher Katalasen im Gegensatz zu den Eigentümlichkeiten der Peroxydasen verhältnismäßig gut unterrichtet sind. Was indessen die von vornherein sehr wahrscheinliche Verbreitung dieses Enzyms auch bei niederen Tieren anbetrifft, so fehlen in der Literatur, so weit ich dieses habe feststellen können, fast vollkommen irgend welche Angaben. Erst in neuester Zeit hat Herlitzka[3]) das Auftreten auch dieses Fermentes im Hühnerei und im Froschei beschrieben. — Ich möchte nun bemerken, daß ich bisher keinen niederen tierischen Organismus angetroffen habe, welcher nicht dieses H_2O_2 zersetzende Enzym, sei es in seiner Leibeshöhlenflüssigkeit, sei es in seinem Körperextrakt besessen hätte. Dabei enthält z. B. die Leibeshöhlenflüssigkeit vieler Insekten soviel von diesem Ferment, daß oft wenige Tropfen genügen, um 5 ccm einer ca. 3 prozentigen H_2O_2-Lösung so stark zu zersetzen, daß der sich entwickelnde Schaum geschlossen im Reagensrohr aufsteigt und überfließt. In der Tat eignet sich ein derartiger Versuch mit der Hämolymphe eines Hydrophilus oder Dytiscus vorzüglich zur Demonstration dieser tierischen Katalase.

Zur allgemeinen Charakteristik dieses Fermentes sei angegeben, daß es durch Beleuchtung in allen bisher untersuchten Fällen abgeschwächt resp. zerstört wird. Der Einfluß der Wellenlänge des Lichtes ist insofern umgekehrt zu dem begünstigenden Einfluß des Lichtes auf die Guajacoxydase, als das Ferment am schnellsten in gemischtem und violettem Licht, am langsamsten im Gelb und in der Dunkelheit zerstört wird. Wie bereits Senter für die Blutkatalase festgestellt hat, und ich bei allen daraufhin untersuchten Gewebeextrakten niederer Tiere

[1]) Siehe die Literatur insbesondere bei Senter l. c.

[2]) Issajew, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, 102ff., 1904; **44**, 546ff., 1905.

[3]) Herlitzka, Mir steht nur das Autoreferat im Arch. f. Entwicklungsmechanik **23**, 1907, zur Verfügung.

gefunden habe, wird dieses Ferment durch Spuren von KCN inaktiviert, im Gegensatz anscheinend zu dem oben beschriebenen Verhalten der Guajacoxydasen. Dasselbe Verhalten habe ich bei der in den Extrakten geschlechtsreifer Amphibienhoden und -eier vorkommenden Katalase feststellen können.

Was die Methoden zur Messung der Stärke oder der Konzentration dieser zwei Oxydasen anbetrifft, so sind sie leider sehr ungleichwertig. Während die Wirkung der Katalase auf H_2O_2 durch Titrierung mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure sehr genau gemessen werden kann, und namentlich bei Berechnung der Geschwindigkeitsformel in der Geschwindigkeitskonstanten sich ein direktes Maß für die Stärke oder Konzentration des Ferments ergibt, ist eine quantitative Messung der Guajacoxydation kaum möglich. Ich habe verschiedenfach calorimetrische Methoden versucht, indessen nicht mit dem gewünschten Erfolg. Es findet sich nämlich häufig, daß zwei zu vergleichende Extrakte nicht nur einen verschiedenen Grad der Bläuung, sondern auch Differenzen im Ton der Farbe besitzen, indem namentlich alle Übergänge von Grün bis zu einem Blau mit schwacher violetter Nuance vorkommen. Ich habe mich daher nur mit der Festlegung des Sinnes der Färbungsdifferenz zwischen zwei auf Guajacoxydasen zu untersuchenden Extrakten begnügt und nur gelegentlich zahlenmäßige Bestimmungen mit Hilfe von Vergleichsflüssigkeiten, die ich mir durch Mischung von Wasserfarben herstellte, unternommen. Da für den vorliegenden Zweck die Feststellung derartiger positiver oder negativer Unterschiede genügt, habe ich (abgesehen von einigen andern Gründen) die Ausarbeitung einer genaueren quantitativen Methode zur Bestimmung dieses Ferments mittels eines anderen Indicators verschoben. Es sei noch hinzugefügt, daß in zweifelhaften Fällen ich mir die Lösungen von mehreren unbeteiligten Personen nach der Tiefe ihrer Färbung rangieren ließ, wobei sich nur äußerst selten eine Differenz der Beurteilungen ergab. Solch letztere Fälle wurden nicht mit in Betracht gezogen.

In der Ausführung der Guajacprobe bin ich von der gewöhnlichen Methode etwas abgewichen. Bekanntlich werden in der Regel zu einer verdünnten alkoholischen Guajaclösung einige Tropfen H_2O_2 und sodann bestimmte Mengen der auf

Peroxydasen zu untersuchenden Flüssigkeit hinzugefügt[1]). Es resultiert aus dieser Mischung ein je nach der Menge des untersuchten Extraktes verschieden konzentriertes wässerig-alkoholisches Reaktionsmedium. Ich habe nun durch vergleichende Versuche z. B. mit Hydrophiluslymphe gefunden, daß der Alkoholgehalt des Gemisches von deutlichem Einfluß auf die Stärke und Geschwindigkeit der Reaktion ist. Es ergab sich dabei ein ausgesprochenes Optimum für die Reaktion bei verhältnismäßig niedrigem Alkoholgehalt, d. h. bei ca. 40—50%. Eine Angabe über dieses merkwürdige und vielleicht für die praktische Anwendung der Guajacproben interessante Resultat habe ich in der Literatur nicht finden können. Da ich indessen die beschriebene Tatsache regelmäßig gefunden habe, so folgt daraus die Notwendigkeit, bei vergleichenden Untersuchungen nur Lösungsgemische von gleichem Alkoholgehalt in Betracht zu ziehen. Indessen spricht noch ein anderer Grund ganz im allgemeinen gegen die Verwendung überhaupt von alkoholhaltigen Reaktionsmedien. Dies ist der schon vielfach beobachtete zerstörende resp. durch Koagulation z. B. inaktivierende Einfluß des Alkohols auf das fragliche Ferment oder Fermentgemisch, ein Einfluß, der bekanntlich von Grüß, Bach und Chodat, Senter und vielen andern direkt zur Unterscheidung und Trennung der erwähnten Formen von Peroxydasen angewendet worden ist. Um daher alle diese zum Teil noch unbekannten Einflüsse des Alkohols auszuschalten, und andererseits um unter Bedingungen zu arbeiten, welche den natürlichen oder biologischen Bedingungen dieser Fermente möglichst ähneln, wäre also ein rein wässeriges Reaktionsmedium unbedingt vorzuziehen. In der Tat kann man aber auch die Guajacoxydation sehr leicht in einem solchen Medium vornehmen, indem man nämlich nicht wie gewöhnlich einige Tropfen des Gewebeextraktes in einen Überschuß alkoholischer

---

[1]) Es wird hierbei abgesehen von den Proben, bei welchen noch etwas „ozonisiertes", d. h. peroxydhaltiges Terpentinöl zugegeben wird. Angesichts der Tatsache, daß viele anorganische und organische Peroxyde allein die Guajacbläuung ergeben, erscheint mir dieses Verfahren, trotzdem ein spezifisches Ferment diese Reaktion theoretisch ja sehr wohl zu beschleunigen vermag, keineswegs ganz einwandsfrei, sondern kompliziert die schon an und für sich verwickelte Sachlage durch Einführung eines weiteren Reaktionsbestandteiles meiner Meinung nach nur noch mehr.

Guajaclösung gibt, sondern umgekehrt, indem man einige wenige Tropfen Guajaclösung zu einer größeren Menge wässerigen Extraktes zufügt und durch lebhaftes Schütteln eine Guajac-Harzsuspension herstellt. Dieses im allgemeinen sehr fein und gleichmäßig suspendierte Harz bläut sich nun bei Gegenwart von Peroxydasen ebenfalls, und zwar schneller und stärker bei Zusatz von etwas H_2O_2. Allerdings findet die Bläuung im allgemeinen nicht so plötzlich statt, wie es bei der gewöhnlichen Guajacprobe der Fall ist, doch ist bei an Peroxydasen reichen Extrakten oft schon in 2—3 Minuten die anfänglich weißliche Färbung der Lösung in ein helles Blau übergegangen, das nach einer halben Stunde sich zu einem tiefen, von dem im alkoholischen Medium auftretenden Guajacblau nur durch die weißliche Trübung verschiedenen Dunkelblau steigert. Bei geringem Peroxydasengehalt ist die Färbung mehr grünlichblau bis rein grün. Es ist nun zu berücksichtigen, daß eine wässerige Guajacsuspension sich beim Stehen, insbesondere bei Belichtung (wie übrigens in geringerem Maße auch eine z. B. auf Filtrierpapier gestrichene alkoholische Lösung), mit der Zeit ebenfalls grün bis blau färbt. Indessen ist, wie man sich durch Scheckversuche leicht überzeugen kann, diese Oxydation eine ungleich langsamere als die durch peroxydasenhaltige Gewebeextrakte bewirkte. Man kann aber diese Lichtempfindlichkeit des Guajacs gut und einwandsfrei dazu benutzen, die beschriebenen Guajacreaktionen in wässerigem Medium durch stärkere Beleuchtung, z. B. direkt durch Sonnenlicht, zu beschleunigen. Dabei ergibt ein Kontrollgefäß, welches nur Wasser und suspendiertes Guajac-Harz in den entsprechenden Mengen enthält, das wirkliche Vorhandensein von Peroxydasen in den anderen Gefäßen. Bei längerem, z. B. mehr als 24stündigem Stehen treten in der Regel, namentlich bei starker Bestrahlung, Unregelmäßigkeiten auf, indem nämlich sowohl das suspendierte Guajac-Harz, als auch das in Alkoholwasser gelöste weiter verändert, nämlich wieder entfärbt wird; bemerkenswerterweise findet die Entfärbung in alkoholisch-wässeriger Lösung viel schneller statt als in rein wässerigem Medium.

Ich beabsichtige nun im folgenden einige Versuche mitzuteilen, welche ich nach den beschriebenen Methoden und Überlegungen über das Vorkommen dieser zwei Arten von Oxydasen, der Guajacperoxydase und der Katalase, in tierischen Geschlechts-

zellen angestellt habe. Abgesehen von dem allgemeinen Interesse, welches sich an die Chemie der Geschlechtszellen, und besonders an etwaige chemische Verschiedenheiten von Ei und Sperma knüpft, ist eine derartige Untersuchung besonders in Rücksicht auf die neueren ausgezeichneten Arbeiten von J. Loeb über die chemischen Seiten des Befruchtungsvorganges erwünscht. Ich werde später Gelegenheit haben, auf die wichtigsten Resultate dieses genialen Forschers, der sogar das „Wesen“ der Befruchtung resp. Entwicklungserregung in oxydativen Vorgängen sucht, allerdings aber auch auf einige mir nicht gerechtfertigt erscheinende Folgerungen dieses Autors einzugehen. Bemerken möchte ich noch, daß die oben angedeuteten Resultate meiner noch nicht veröffentlichten heliotropischen Untersuchungen mir den Anlaß gaben, nach ähnlichen Verhältnissen und Verschiedenheiten bei Geschlechtszellen zu suchen.

II. Technisches. Orientierende Versuche. Bestimmung der Reaktionsordnung der H_2O_2-Zersetzung.

Um vergleichende physiologisch-chemische Versuche anzustellen, bedurfte es natürlich einer größeren Menge von Material. Die für derartige Zwecke wohl idealen Seeigel standen mir im Binnenlande nicht zu der nötigen ausgiebigen Verfügung; übrigens war an der Neapeler Station z. B. die eigentliche Reifezeit bei Beginn dieser Versuche schon vorüber. In nächster Annäherung erschienen von den mir zur Verfügung stehenden Organismen die Amphibien geeignet. Leider war indessen auch hier die Laichzeit von R. temporaria vorbei, und auch von R. esculenta erhielt ich nur noch wenige geschlechtsreife Individuen. Ich habe daher in der Hauptsache nur Urodelen, und zwar insbesondere Triton cristatus und Triton taeniatus benutzt, und nur gelegentlich auch die Geschlechtszellen von R. esculenta, Bufo sp., Salamandra maculosa usw. untersucht. Ein Unterschied in den hier in Betracht kommenden Punkten ist dabei zwischen den genannten Species von mir nicht gefunden worden. Natürlich schwankt der absolute Gehalt von Oxydasen in den Extrakten der Geschlechtszellen sowohl individuell als mit der Species. Die konzentriertesten Fermentlösungen erhielt ich im allgemeinen bei den Tritonarten, sehr wahrscheinlich aber nur aus dem Grunde, weil diese gerade die Höhe ihrer Laichzeit erreicht hatten.

Eine Schwierigkeit bestand nun darin, Extrakte aus einem Material herzustellen, welches einerseits möglichst reich an Geschlechtszellen und arm an Stütz- und Ernährungsgeweben waren, andererseits gestattete, zum Zwecke der Vergleichung Lösungen gleichen Gehalts an Geschlechtszellenmaterial herzustellen. Bekanntlich enthält der reife Hoden von Arbacia nach Mathews[1]) nur ca. 5% Bindegewebe usw.; ein ähnliches Verhältnis besteht sehr wahrscheinlich auch für die reifen Ovarien sowohl der Seeigel, als aber auch höherer geschlechtsreifer Tiere, z. B. der Amphibien, insofern als man die Eier aus den reifen Ovarien leicht ausschütteln kann, ohne daß ein großer Rest an Stütz- und Ernährungsgewebe verbleibt. Ganz dasselbe gilt nun nicht für die geschlechtsreifen Hoden der Amphibien, da wahrscheinlich die solide Hodenwand an Gewicht meist mehr als 5% des Gesamtgewichts betragen wird. Immerhin ist zu berücksichtigen, daß das Ansteigen des Hodengewichts auf das Zwanzigbis Dreißigfache des Normalen während der Brunstperiode überwiegend dem ungeheuren Wachsen der Keimzellen, welche dem Hoden die Form und die Beschaffenheit einer prall gefüllten Blase geben, zuzuschreiben ist. Beabsichtigt man indessen vergleichende Untersuchungen über den Oxydasengehält der Geschlechtszellen anzustellen, so ist eine Beziehung auf gleiches Ausgangsgewicht notwendig; und trotz eines möglichen Fehlers von 10%, hervorgerufen durch einen größeren Gehalt an Bindegewebe usw., bin ich so vorgegangen, daß ich das Gewicht der möglichst reinlich präparierten, leicht abgetrockneten Hoden eines Tieres bestimmte und eine entsprechende Menge des reifen Ovariums eines andern Tieres abwog. Beide Gewebe wurden dann in gleiche Mengen Chloroformwasser gebracht und zerrieben; die Flüssigkeiten wurden in der Regel gleich, zuweilen auch nach einigem Stehen filtriert. Der Hodenextrakt ergab dabei durchweg ein klareres Filtrat als der Extrakt aus den Eiern.

Was den Sinn des Fehlers anbetrifft, der durch den wahrscheinlich größeren Betrag an Bindegewebe bei der Herstellung des Hodenextrakts hervorgerufen wurde, so macht die folgende Beobachtung es wahrscheinlich, daß, bezogen auf den eigentlichen Gehalt an Keimzellen, der Hodenextrakt jedenfalls etwas ver-

---

[1]) Mathews, Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 399ff., 1897.

dünnter war als der Eiextrakt. Zerquetschte ich nämlich die Hoden (ohne Quarzsand) zunächst nur ganz grob, so daß sich in der Hauptsache nur ihr Inhalt entleerte, goß dann die Flüssigkeit ab und zerrieb mit wenig Chloroformwasser die übrig gebliebenen Gewebsfetzen, die an Gewicht zuweilen sicher 30—50% des Hodengewichtes betrugen, feiner, so erhielt ich einen Extrakt, der im Vergleich zu dem eigentlichen Spermaextrakt nur einen sehr geringen Gehalt an Oxydasen aufwies. Es geht hieraus hervor, daß die Hodenwand jedenfalls ärmer an Oxydasen ist als die eigentlichen Keimzellen, so daß die obige Beziehung auf gleiches Hoden- und Ovargewicht sicher ungünstig in bezug auf den Spermextrakt ist. Der Sinn dieses Fehlers ist aber für die vorliegenden vergleichenden Versuche von Wichtigkeit.

Man könnte noch an einen andern Fehler denken, der durch den ungleichen Wassergehalt von Ovarien und Hoden hervorgerufen wird. Durch Bestimmung des Gewichtsverlustes gleicher Mengen Hoden und Ovar beim Trocknen läßt sich dieser relative Wassergehalt ermitteln. Da ich mein Material zu schonen hatte, habe ich nur eine derartige Bestimmung mit dem folgenden Resultat ausgeführt:

Ein Hoden von Tr. cristatus wog frisch 0,0490 g; es wurde eine gleiche Menge Ovar abgewogen. Beide Gewebe wurden über $CaCl_2$ erst bei Zimmertemperatur und dann bei ca. 50° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Hoden wog 0,0425, das Ovar 0,0430 g. Der Wassergehalt des Hoden betrug also 13,2%, der des Ovars 12,2%. Sollte dieser Unterschied ein regelmäßiger sein, so würde dies bedeuten, daß der auf das Gewicht des frischen Hodens bezogene Extrakt auch in bezug auf organische Substanz ärmer oder verdünnter war als der Eiextrakt.

Es ist fraglich, ob sich derartige Unsicherheiten bei der Herstellung von Geschlechtszellenextrakten gleichen Gehalts auch bei günstigerem Material vollkommen vermeiden lassen. Ein anderer möglicher Weg wäre vielleicht der, größere Mengen reinen Spermas resp. ausgeschüttelter Eier eintrocknen zu lassen und die zu vergleichenden Lösungen mit gleichen Mengen dieser Trockensubstanz herzustellen. Dabei ist aber die Voraussetzung notwendig, daß die zu untersuchenden Oxydasen durch die Prozedur des Trocknens nicht geschädigt oder überhaupt wesentlich verändert werden. Es gelingt z. B. die jungen Raupen von

Porthesia chrysorrhea durch schnelles Trocknen über $CaCl_2$ so zu konservieren, daß ihr Gehalt an Katalase nur wenig abnimmt und, falls man die getrockneten Raupen im Dunklen und Kühlen hält, auch nach mehreren Monaten sich nur wenig geändert hat. Was die Konservierung der Guajacperoxydasen anbetrifft, so kann ich bisher über derartige Erfahrungen nicht berichten, obgleich ich Ähnliches nicht für ausgeschlossen halte. Ob Entsprechendes auch für die Geschlechtszellen von Amphibien gilt, habe ich in Anbetracht der Kürze der Laichperiode meines Materials nicht untersucht.

In bezug auf die Reife der verwendeten Geschlechtszellen sei angegeben, daß zunächst die Hoden bei mikroskopischer Untersuchung jedesmal eine ungeheure Menge reifer, sich lebhaft bewegender Spermatozoen aufwiesen. Die Reifung der Eier wurde einerseits dadurch bewiesen, daß eine Anzahl der verwendeten Individuen bereits einen Teil derselben abgelegt hatte, andererseits dadurch, daß sich die Ovarialeier durch leichtes Schütteln von ihrem Follikelgewebe loslösten, resp. daß sich losgelöste und bereits mit Gallerthüllen versehene Eier in den Eileitern vorfanden. Es wurden indessen nur Eier, welche noch nicht in den Eileiter getreten waren, verwendet. Dies geschah insbesondere in Rücksicht auf den Umstand, daß bekanntlich bei vielen Tritonarten, speziell bei Tr. cristatus, eine innere Begattung stattfindet. Daß die zu den Extrakten benutzten Ovarialeier noch nicht befruchtet waren, geht am einfachsten aus der Tatsache hervor, daß nie eins derselben nach dem Herausnehmen auch nur eine Spur von Entwicklung im Wasser zeigte.

Orientierende Versuche mit den auf diese Weise hergestellten Extrakten ergaben zunächst, daß in beiden Lösungen beiderlei oxydative Fermente, Guajacperoxydase und Katalase, enthalten waren. Sowohl Sperma als Eiextrakte bläuten schneller und stärker suspendiertes Guajac-Harz als der Luftsauerstoff in gewöhnlichem (gelüftetem) destillierten Wasser. Durch Belichtung wurde diese Reaktion wie in allen andern von mir untersuchten Fällen beschleunigt resp. verstärkt. Andererseits ergab sich beim Vermischen der Extrakte mit Wasserstoffsuperoxyd bereits makroskopisch die Entwicklung von Sauerstoff in Bläschen, d. h. das Vorhandensein eines H_2O_2 zersetzenden Stoffes. Hörte die Sauerstoffentwicklung auf, war aber, wie durch Titration

gezeigt werden konnte, noch H_2O_2 in der Lösung vorhanden, so wurde durch Hinzufügen einer weiteren kleinen Extraktmenge die Zersetzung weitergeführt. Wurden andererseits sehr verdünnte H_2O_2-Lösungen mit einem Überschuß von Extrakt verwendet, so konnten mehrmals zugesetzte Mengen von H_2O_2 wieder zum Verschwinden gebracht werden, allerdings aus einem gleich zu besprechenden Grunde nicht in beliebiger Wiederholung.

Wie erwähnt, läßt sich einstweilen der Gehalt des Gewebeextraktes an Guajacperoxydase nicht scharf bestimmen, resp. auf eine Normalskala beziehen; ich sehe daher von allen etwaigen Angaben über die absolute Stärke oder Konzentration derselben in den Extrakten ab. Für das Messen der Katalase ergeben sich die Geschwindigkeitskonstanten der Zersetzung als geeignete Maßzahlen. Zur Erlangung solcher Geschwindigkeitskonstanten ist indessen die Feststellung der Reaktionsordnung resp. der Formel der Zersetzungsgeschwindigkeit notwendig. Von Senter und Issajew wurde bekanntlich gefunden, daß die Blut- und Hefekatalase H_2O_2 in monomolekularer Reaktion zersetzt, resp. daß die Geschwindigkeitsformel gilt

$$\frac{dC_0}{dt} = K_1 C_t$$

wobei C_0 die Anfangskonzentration, C_t die zur Zeit t vorhandene H_2O_2-Konzentration und K_1 die Geschwindigkeitskonstante ist. Ich habe für die Katalase in den Extrakten der überwinternden Raupen von Porthesia chrysorhoea dieselbe Reaktionsordnung gefunden wie Senter und Issajew. Als Beispiel greife ich aus diesen noch nicht veröffentlichten Versuchen die folgende Tabelle (Tab. I) heraus. Es sei hinzugefügt, daß k_1 nach der Integration

$$4343\ K_1 = \frac{1}{t} \cdot \log \frac{C_0}{C_t} \qquad (1)$$

und k_2 nach der Integration

$$4343\ K_2 = \frac{1}{t_2 - t_1} \cdot \log \frac{C_1}{C_2} \qquad (2)$$

berechnet wurden. Hierbei ist t die ganze Reaktionszeit bis zur Messung, $t_2 - t_1$ das Zeitintervall zwischen zwei Messungen, C_0 die Anfangskonzentration (Anfangstiter der H_2O_2-Lösung), C_t der Titer nach der Reaktionszeit t, C_1 und C_2 die zwei Titer zweier aufeinanderfolgender, zu den Zeiten t_1 und t_2 vorgenommener

Messungen. Bekanntlich zeigt die zweite Integrationsform einen etwaigen Gang der Konstanten viel deutlicher als die erste.

Tabelle I.

Zwanzig überwinternde Räupchen von Porthesia chrysorrhoea wurden mit 20 ccm Chloroformwasser zerrieben. Nach zweistündigem Stehen (im Dunkeln bei 17,5°) wurde die Flüssigkeit abfiltriert. Zu 150 ccm $\frac{m}{50}$ H_2O_2 (annähernd) wurden 15 ccm dieses Extraktes zugegeben und je 10 ccm mit $\frac{m}{500}$ $KMnO_4$ titriert.

t (Min.)	C_t = verbrauchte ccm $KMnO_4$	4343 k_1	4343 k_2
0	27,08 (berechnet)	—	—
10	23,9	0,00543	0,00543
20	21,3	521	500
30	18,9	514	519
40	16,8	518	512
50	15,3	496	367 [1])
60	13,6	498	651
70	12,2	495	522
80	11,0	488	450
90	9,8	490	502
100	8,9	483	418
110	8,1	476	409
120	7,5	463	335
130	6,8	462	426
140	6,3	466	332

[1]) Wie aus der folgenden Zahl hervorgeht, liegt hier offenbar ein Fehler in der Zeitablesung vor.

Die Tabelle zeigt einen allmählichen Gang für beide Werte von k; indessen beträgt die Differenz der k_1-Werte bis zum Verlauf von etwa zwei Drittel der Reaktion nicht mehr als 10%. Wie schon von Senter und Issajew für die Blut- und Hefekatalase gezeigt wurde, gilt das Reaktionsschema der ersten Ordnung streng nur für relativ kleine H_2O_2-Konzentrationen. Grund hierfür, resp. für das allmähliche Fallen der Konstanten liegt zweifellos in der allmählichen Zerstörung des Fermentes.

Dieser zerstörende Einfluß des H_2O_2 auf das Enzym zeigt sich nun in einem noch viel deutlicheren Maße bei den Versuchen mit Sperma- und Eiextrakten, wie z. B. aus Tabellen II und III hervorgeht. Es geht daraus hervor, daß anscheinend die

Katalase dieser Extrakte gegen H_2O_2 empfindlicher ist als die in den Geweben überwinternder Räupchen enthaltene. Man kann daher beim Versuch der mathematischen Formulierung dieser Reaktionen nicht die erste monomolekulare Ordnung erwarten, sondern hat sich nach einer Geschwindigkeitsformel höherer Ordnung umzusehen. Da das Enzym augenscheinlich während der Reaktion zerstört wird, würde die theoretisch genaue Formel sich aus einer Geschwindigkeitsformel der direkten H_2O_2-Zersetzung und aus einer Geschwindigkeitsformel der in gewissem Sinne als „Gegenreaktion" zu bezeichnenden Enzymzerstörung zusammensetzen. Bekanntlich ist bereits der Ansatz für ein derartiges Reaktionsschema ziemlich verwickelt, in noch höherem Maße jedoch eine Integration einer derartigen Formel[1]). Eine Berechnung nach der Geschwindigkeitsformel zweiter Ordnung

$$\frac{dx}{dt} = K(a - x)(b - x)$$

resp. nach ihrer Integration

$$4343\, K_3 = \frac{1}{t} \cdot \frac{1}{a - b} \log \frac{b}{a} \cdot \frac{a - x}{b - x} \tag{3}$$

ergibt zwar, wie Tabellen II, III und IV zeigen, etwas weniger stark variierende Konstanten, kann aber, schon aus theoretischen Gründen, den (hier umgekehrten) Gang der Konstanten nicht verdecken.

Tabelle II.

Vier geschlechtsreife Hoden von Rana esculenta (Gewicht der Hoden gleich 0,070 g) wurden mit 30 ccm Chloroformwasser zerrieben, die Flüssigkeit sofort filtriert. Zu 50 ccm $\frac{m}{50}$ H_2O_2 wurden 10 ccm dieses Extraktes hinzugefügt und je 10 ccm mit $\frac{m}{500}$ $KMnO_4$ titriert. Temp. ca. 18,0°

t (Min.)	$C_{H_2O_2}$ (in ccm $\frac{KMnO_4}{500}$)	4343 k_1	4343 k_2	4343 k_3
0	29,3 (berechnet)	—	—	—
15	24,4	0,00529	0,00529	0,000200
30	20,7	504	476	216
60	15,8	446	392	235
90	13,0	392	282	232
∞ (ca. 26 h)	2,3	—	—	—

$K = 0{,}00565$

[1]) In Wilh. Ostwald, Lehrb. d. allg. Chem., 2. Aufl., 2, 2, Chemische Dynamik, ist für diesen Fall noch keine Berechnung gegeben worden.

Tabelle III.

Es wurden gleichzeitig (siehe Tab. II) 0,070 g losgeschüttelte Ovarialeier von Rana esculenta abgewogen, mit 30 ccm Chloroformwasser zerrieben und die Flüssigkeit filtriert. Zu 50 ccm derselben H_2O_2-Lösung (Tab. II) wurden 10 ccm des Extraktes hinzugefügt und je 10 ccm titriert. Temperatur wie in Tabelle II.

t (*Min.*)	$C_{H_2O_2}\left(\text{in ccm } \frac{KMnO_4}{500}\right)$	4343 k_1	4343 k_2	4343 k_3
0	29,3 (berechnet)	—	—	—
15	27,1	0,00226	0,00226	0,000180
30	25,0	226	233	198
60	22,0	206	185	215
90	20,0	184	138	216
∞ (ca. 36 h)	15,4	—	—	—

$K = 0,00245$

In den Tabellen ist k_1 nach Gleichung (1), k_2 nach Gleichung (2) und k_3 nach Gleichung (3) berechnet. K ist der graphisch extrapolierte Anfangswert für k_1. — Dieselbe Bezeichnung gilt für die folgenden Tabellen.

Tabelle IV.

Es wurden 50 ccm ca. $\frac{m}{25}$ H_2O_2-Lösung mit 50 ccm einer Lösung gemischt, welche das Endprodukt mehrerer H_2O_2-Zersetzungen durch Ei- und Spermaextrakt darstellte, indessen kein aktives Ferment mehr und nur Spuren von H_2O_2 aufwies. Der Titer dieses Gemisches betrug mit $\frac{KMnO_4}{500}$ pro 10 ccm Lösung 29,6 ccm. Zu diesem Gemisch wurden nun 10 ccm eines starken Hodenextraktes (0,091 Hoden plus 20 ccm Chloroformwasser) hinzugefügt und je 10 ccm titriert. Temperatur ca. 17,5°.

t (Min.)	$C_{H_2O_2}\left(\text{in ccm } \frac{KMnO_4}{500}\right)$	4343 k_1	4343 k_2	4343 k_3
0	26,3 (berechnet)	—	—	—
5	24,2	0,00723	0,00723	0,000206
10	22,3	717	710	237
20	20,5	546	367	218
30	19,1	463	307	235
45	18,3	350	124	223
60	17,6	291	113	203
75	17,5 (?)	236	015 ?	332
∞ (ca. 18 h)	17,1	—	—	—

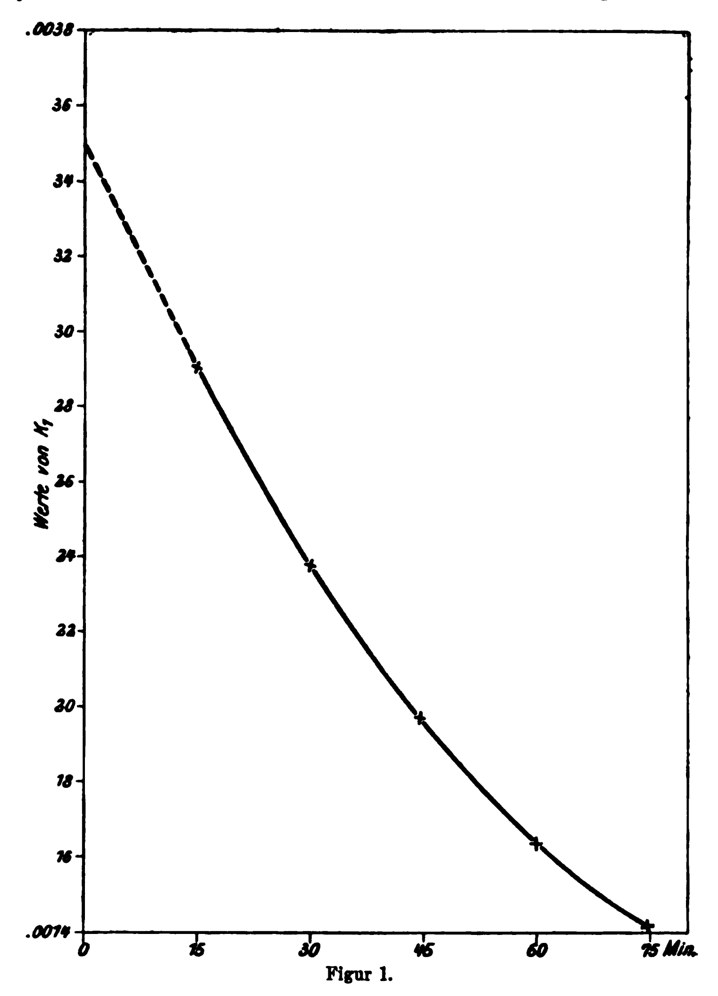
$K = 0,0083.$

Die Schwankungen von K_2 zeigen keinen Gang, sondern sind unregelmäßig. Der mit ? versehene Wert ist wegen des geringen Titerunterschiedes (0,1 ccm) unsicher und fällt auch vollkommen aus der Reihe der übrigen K-Werte heraus.

Indessen lassen sich noch auf einem andern Wege Werte für die Geschwindigkeitskonstanten ermitteln, welche dem vorliegenden Zweck vollkommen entsprechen. Diese Methode[1]) basiert zunächst auf der Voraussetzung, daß die Zersetzungsgeschwindigkeit der H_2O_2 proportional der Enzymkonzentration des Reaktionsgemisches ist. Diese Voraussetzung ist in erster Annäherung (bei geringen H_2O_2-Konzentrationen) für die Blutkatalase nach den Untersuchungen von Senter vollkommen erfüllt; auch ich habe sie ziemlich weitgehend für die Gewebekatalase der Porthesia-Raupen feststellen können (noch unveröffentlichte Versuche). Aus den Versuchen mit verdünnten H_2O_2-Lösungen, in welchen das Enzym nur sehr langsam zerstört wird, geht hervor, daß die Hauptreaktion, die Zersetzung nach der monomolekularen Geschwindigkeitsformel verläuft. Berechnet man nun nach dieser Formel, wie dies in Tabellen I, II, III, IV usw. geschehen ist, die „Konstanten" der Gleichung nach Formel (1) und trägt diese Werte als Ordinaten, die zugehörigen Reaktionszeiten als Abszissen auf, so erhält man durch Verbindung dieser Punkte eine Kurve, in welcher die Zerstörung des Enzyms mit der Zeit, d. h. die Gegenreaktion, zum Ausdruck kommt (Fig. 1). Nun beginnt diese Gegenreaktion (die Zerstörung des Enzyms) natürlich augenblicklich, sowie die Enzymlösung mit der H_2O_2-Lösung in Berührung kommt; ja die Konstantenkurven zeigen sogar, daß die Zerstörung zuerst am stärksten ist und dann allmählich abnimmt. Extrapoliert man nun graphisch durch Verlängerung der Kurve auf die Zeit 0, d. h. auf den Beginn der Reaktion, so erhält man einen Wert für K_1, welcher der vollständigen, durch H_2O_2 noch unveränderten Enzymkonzentration zu Anfang der Reaktion proportional ist. Diese handliche Methode habe ich zur Berechnung von K in den folgenden Tabellen benutzt.

Eine recht bemerkenswerte Tatsache ist, daß man sehr gute Konstanten für eine Reaktionsformel zweiter Ordnung erhält, falls man zu dem Reaktionsgemisch die Endprodukte eines anderen bereits zersetzten Gemisches hinzufügt. Dies Verhalten geht z. B. aus Tabelle IV hervor. k_1 und k_2, welche nach der mono-

[1]) Ich verdanke diese Methode meinem Vater, Wilhelm Ostwald. — Auch Herrn Privatdozent Dr. K. Drucker - Leipzig, mit dem ich die vorliegenden reaktionskinetischen Verhältnisse habe durchsprechen können, bin ich sehr verpflichtet.



Figur 1.

molekularen Geschwindigkeitsformel berechnet wurden, zeigen einen starken Gang, der unzweifelhaft ebenfalls auf eine Zerstörung des Enzyms zurückzuführen ist. Einen ausreichenden Grund für diese Erscheinung vermag ich einstweilen nicht anzugeben.

III. Über den relativen Katalasengehalt gleichkonzentrierter Sperma- und Eiextrakte.

Beim Vergleich von Sperma- und Eiextrakten, welche mittels der beschriebenen Methoden hergestellt und auf ihren Oxydasengehalt untersucht wurden, zeigte sich, um das Hauptresultat gleich hier anzudeuten, daß mit vollkommener Regel-

mäßigkeit (d. h. ausnahmslos) die Spermaextrakte reicher sowohl an Katalase als an Guajacperoxydase waren als die gleichkonzentrierten Eiextrakte.

Bevor ich diese Tatsache durch eine Anzahl von Beispielen erhärte, möchte ich auf die im ersten Abschnitt dieser Arbeiten bezüglich der Fehlerquellen der Herstellung gleichkonzentrierter Sperma- und Eiextrakte angestellten Erwägungen hinweisen. Es ergab sich, daß ein etwaiger Fehler bei der Herstellung der Lösungen aus zwei Gründen darauf hinwirken konnte, daß der Spermaextrakt bei der angewandten Herstellungsmethode im Verhältnis zum Eiextrakt nur verdünnter, keinesfalls aber konzentrierter sein konnte in bezug auf den Quotient $\frac{\text{Geschlechtszellenmaterial}}{\text{Chloroformwasser}}$ als der Eiextrakt. Diese zwei möglichen resp. sogar wahrscheinlichen Fehler liegen aber, wie ersichtlich, im entgegengesetzten Sinne zu dem eben angegebenen Resultat der vergleichenden Untersuchungen, können also den beobachteten Unterschied im Verhältnis zum wahren nur verkleinern, keinesfalls jedoch als Ursache derselben angesehen werden. Ich halte die Betonung dieses Umstandes für besonders wichtig.

Es seien zunächst einige Beispiele für den relativen Katalasengehalt beider Extraktarten angeführt.

Tabelle V.

Tr. cristatus. Zwei Hoden wogen 0,070 g, zwei Ovarien 0,487 g. Die Hoden wurden in 20 ccm, die Ovarien in 140 ccm Chloroformwasser zerrieben (Hodengewicht : Ovargewicht = ca. 1/7). Nach 3stündigem Stehen wurde mehrmals filtriert, ohne einen vollkommen klaren Extrakt zu erhalten. Hodenextrakt schwach rötlich, Ovarextrakt gelblichweiß, schwach milchig. 5 ccm Extrakt wurden zu 50 ccm ca. $\frac{H_2O_2}{50}$ gegeben; je 10 ccm titriert. Temperatur ca. 17,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$[1]	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	27,09 (berechnet)	—	0	27,09 (berechnet)	—
15	20,1	0,00865	15	24,5	0,00291
30	16,2	744	30	23,0	237
45	14,0	637	45	22,1	197
61	12,5	551	60	21,6	164
75	11,9	476	75	21,2	142
K (graphisch ermittelt) = 0,0106			K (graphisch ermittelt) = 0,0035		

[1]) Siehe Fußnote auf S. 429.

Tabelle VI.

Tr. cristatus. Zwei Hoden wogen 0,0505 g; ebensoviel Ovar abgewogen. Die Eier schienen noch reifer als die in Tabelle V zu sein, da sie sich aus dem Stützgewebe des Ovars bei leichter Berührung sofort auslösen. Zerrieben mit 20 ccm Chloroformwasser. 5 ccm Extrakt zu 50 ccm ca. $\frac{H_2O_2}{50}$; je 10 ccm titriert. Temperatur ca. 18,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$ [1]	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	26,28 (berechnet)	—	0	26,28 (berechnet)	—
15	17,3	0,01144	15	22,9	0,00398
30	13,5	0,00958	31	21,9	315
45	11,6	789	45	21,2	207
61	10,3	665	60	21,1	159
75	9,7	577	75	21,15	—
$K = 0,0138$			$K = 0,0052$		

Tabelle VII.

Derselbe Extrakt wie in Tabelle VI, nur nach ca. 5stündigem Stehen in diffusem Tageslicht bei Zimmertemperatur. Versuchsanordnung die gleiche. Temperatur ca. 18,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	25,4 (berechnet)	—	0	25,4 (berechnet)	—
15	17,8	0,01029	15	22,6	0,00338
30	13,7	0,00894	30	21,8	221
45	11,7	748	45	21,3	169
60	10,2	660	60	21,1	134
75	9,5	569	75	21,0	110
$K = 0,0121$			$K = 0,0045$		

Tabelle VIII.

Tr. cristatus. Vier Hoden wogen 0,115 g; ebensoviel Ovar abgewogen. Zerrieben in 40 ccm Chloroformwasser. 5 ccm Extrakt zu 50 ccm ca. $\frac{H_2O_2}{50}$ je 10 ccm titriert. Temperatur ca. 18,0°.

[1]) In allen folgenden Tabellen wurde stets mit $\frac{m}{500}$ $KMnO_4$ titriert; von dieser Lösung war ein Vorrat von 6 l hergestellt und sorgfältig aufbewahrt worden.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2H_2}$	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,31 (berechnet)	—	0	28,31 (berechnet)	—
15	23,6	0,00527	15	26,4	0,00202
30	20,1	496	30	25,2	168
60	16,2	404	60	23,5	135
90	14,4	326	90	22,9	102
∞(ca. 62 h)	11,0	—	∞(ca. 62 h)	22,0	—
	$K = 0{,}0060$			$K = 0{,}0023$	

Tabelle IX.

Dieselben Extrakte wie in Tabelle VIII, nach 67 Stunden Stehen im Halbdunkeln. Versuchsanordnung die gleiche. Temperatur ca. 17,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,9 (berechnet)	—	0	28,9 (berechnet)	—
15	26,7	0,00229	15	27,6	0,00134
30	24,8	222	30	26,7	115
60	22,4	183	60	25,8	082
90	21,2	149	90	25,3	064
∞ (ca. 30 h)	19,4	—	∞ (ca. 30 h)	24,2	—
	$K = 0{,}0026$			$K = 0{,}0016$	

Tabelle X.

Tr. cristatus. Vier Hoden wogen 0,128 g; ebensoviel Ovar abgewogen. Die Eier scheinen sehr reif zu sein, da sich im Oviduct bereits mit Gallerthüllen versehene vorfinden; die letzteren wurden nicht mit benutzt. Zerrieben mit 40 ccm Chloroformwasser; filtriert. 5 ccm Extrakt zu 50 ccm ca. $\frac{H_2O_2}{50}$. Je 10 ccm titriert. Temperatur ca. 17,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	434 3 k	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,54 (berechnet)	—	0	28,54 (berechnet)	—
15	22,6	0,00676	15	26,9	0,00171
30	18,1	659	30	25,6	157
60	12,2	615	60	23,3	148
90	8,9	592	90	22,1	125
(25 h)	0,8 (?)	—	(24 h)	20,1	—
	$K = 0{,}0070$			$K = 0{,}0018$	

Tabelle XI.

Derselbe Extrakt, 28 Stunden alt. Versuchsanordnung dieselbe wie in Tabelle X. Temperatur ca. 18,0°.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,5 (berechnet)	—	0	28,5 (berechnet)	—
15	24,5	0,00438	20	26,7	0,00141
30	21,5	408	30	26,0	133
60	17,8	341	60	25,0	095
90	15,3	300	90	24,7	067
$K = 0{,}0049$			$K = 0{,}0016$		

In der folgenden Tabelle (Tab. XII) sind die in den vorangehenden Tabellen dargestellten Versuche zusammengefaßt, und zwar in der Weise, daß die graphisch extrapolierten K-Werte gemäß der Konzentration der Extrakte (Hoden- und Ovargewicht pro Kubikzentimeter Chloroformwasser) geordnet wurden. Es sei noch bemerkt, daß hier nur die ausführlichsten Versuche zur vergleichenden Katalasenbestimmung der Extrakte angeführt wurden, solche nämlich, bei denen eine größere Anzahl von k_1-Werten gemessen resp. berechnet wurde, so daß eine sichere Extrapolation von K möglich war. Indessen wurden noch eine größere Anzahl von Extrakten sowohl hergestellt, als auch, wenn auch weniger ausführlich, gemessen; alle untersuchten Extrakte zeigten den mitgeteilten Unterschied in bezug auf ihren Katalasengehalt.

Tabelle XII.

		K_{Sp}	K_E	$K_{Sp} - K_E$
1. Rana esculenta	2 Hoden, 1 Ovar; O-Titer der H_2O_2-Lösung: 29,3 30 ccm: 0,070 g = 2,33 mg/ccm Gehalt	$5{,}65 \times 10^{-3}$	$2{,}45 \times 10^{-3}$	$+3{,}20 \times 10^{-3}$ = 57,14 %
2. Triton cristatus	2 Hoden, 1 Ovar; O-Titer der H_2O_2-Lösung: 26,28 20 ccm: 0,0505 g = 2,53 mg/ccm Gehalt	$13{,}8 \times 10^{-3}$	$5{,}2 \times 10^{-3}$	$+8{,}6 \times 10^{-3}$ = 62,32 %
3. Triton cristatus	4 Hoden, 1 Ovar; O-Titer der H_2O_2-Lösung: 28,31 40 ccm: 0,115 g = 2,85 mg/ccm Gehalt	$6{,}0 \times 10^{-3}$	$2{,}3 \times 10^{-3}$	$+3{,}7 \times 10^{-3}$ = 61,77 %

Tabelle XII (Fortsetzung).

		K_{Sp}	K_E	$K_{Sp} - K_E$
4. Triton cristatus	4 Hoden, 1 Ovar; O-Titer der H_2O_2-Lösung: 28,54 40 ccm: 0,128 g = 3,20 mg/ccm Gehalt	$7,0 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-3}$	$+ 5,2 \times 10^{-3}$ = 74,29 %
5. Triton cristatus	2 Hoden, 1 Ovar; O-Titer der H_2O_2-Lösung: 27,09 20 ccm: 0,070 g = 3,50 mg/ccm Gehalt	$10,6 \times 10^{-3}$	$3,5 \times 10^{-3}$	$+ 7,1 \times 10^{-3}$ = 66,94 %
(2) Triton cristatus	Extrakt (2) 5 Stunden alt O-Titer der H_2O_2-Lösung: 25,4	$12,1 \times 10^{-3}$	$4,5 \times 10^{-3}$	$+ 7,6 \times 10^{-3}$ = 62,81 %
(3) Triton cristatus	Extrakt (3) 67 Stunden alt O-Titer der H_2O_2-Lösung: 28,9	$2,6 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-3}$	$+ 1,0 \times 10^{-3}$ = 38,46 %
(4) Triton cristatus	Extrakt (4) 28 Stunden alt O-Titer der H_2O_2-Lösung: 28,5	$4,9 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-3}$	$+ 3,3 \times 10^{-3}$ = 67,35 %

Aus Tabelle XII geht zunächst hervor, daß der Unterschied zwischen dem Katalasengehalt von Sperma- und Eiextrakten gleicher Konzentration ein sehr beträchtlicher ist. Bei allen untersuchten frischen Lösungen (und bei solchen, die nicht über 1—2 Tage alt sind) beträgt der Unterschied mehr als 50%, bei frischen Lösungen im Durchschnitt 64,5%. Ferner aber ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß dieser Unterschied beim zahlenmäßigen Vergleich der Extrakte aus 14 Hoden und 6 Ovarien resp. Ovarproben trotz der großen Verschiedenheit der Extrakte in bezug auf Gewebegehalt und absoluten Katalasengehalt (die sich aus dem Vergleiche der absoluten Werte von K_{Sp} und K_E in Tab. XII ergibt) praktisch fast konstant ist. Der prozentuale Unterschied beträgt bei sieben Paaren von Lösungen: 57,14, 62,32, 61,77, 74,29, 66,94 (62,81, 67,35) %; die größten Abweichungen vom Mittel (der frischen Lösungen) betragen nach oben 9,8, nach unten 7,35. In dieser Aufzählung ist das Extraktpaar aus den Geschlechtszellen von Rana esculenta mit einbegriffen. Berücksichtigt man nur die Versuche mit den Geschlechtszellen von Triton cristatus, was hier zweifellos richtiger ist, so erhält man bei frischen Lösungen 62,32, 61,77, 74,29, 66,94%, im Mittel 66,33%, d. h. die größte Zahl weicht um 7,96, die kleinste um 4,56 vom Mittel ab. Diese ziemlich annähernde Konstanz des prozentualen Unterschiedes würde sich aller Wahrscheinlichkeit

nach bei Berücksichtigung des Gewebegehaltes (mg/ccm), des absoluten Katalasengehaltes der Extrakte, vor allen Dingen aber auch des H_2O_2-Gehaltes der Reaktionsgemische (das Extraktpaar [von Rana esculenta], welches den niedrigsten prozentualen Unterschied, 57,14%, aufwies, wurde in dem stärksten Reaktionsgemisch, H_2O_2-Titer = 29,3, untersucht) noch viel deutlicher ergeben. Es wäre meiner Ansicht nach von sehr großem Interesse, falls eine weitere Untersuchung in dieser Richtung, z. B. an dem günstigeren Seeigelmaterial, das Resultat bestätigen resp. erweitern würde, daß ein konstanter prozentualer Unterschied in dem Katalasengehalt von Sperma und Ei einer Tierspecies besteht. Da in den mitgeteilten quantitativen Versuchen die Geschlechtszellen von Rana nur einmal ausführlich untersucht wurden, läßt sich nicht entscheiden, ob die annähernde Zugehörigkeit der betreffenden Unterschiedszahl zu den andern zufällig ist oder nicht.

Von Einzelheiten sei noch bemerkt, daß erstens der Katalasengehalt der Extrakte nicht proportional der zum Extrakt verwandten Geschlechtszellenmenge (mg/ccm) ist, wie aus dem Vergleich der Gehaltszahlen (mg/ccm) und den Werten für K_{Sp} und K_E hervorgeht. Ob das geringe, wenn auch unregelmäßige Ansteigen des prozentualen Unterschiedes mit dem Gewebegehalt (mg/ccm) ein sachlich begründetes und in Wirklichkeit regelmäßiges ist, läßt sich auf Grund der vorliegenden Versuche noch nicht mit Sicherheit entscheiden. Zweitens geht aus Tabellen VI und VII, VIII und IX, sowie X und XI hervor, daß die Extrakte bei längerem Stehen ihren Gehalt an Katalase allmählich verlieren. Dies Verhalten der Katalase, welches ich auch bei sämtlichen katalasenhaltigen Extrakten niederer Tiere und ihrer Organe wiedergefunden habe, und welches vor allen Dingen dem Luftsauerstoff sowie dem Licht zuzuschreiben ist, ist gerade entgegengesetzt zu dem Verhalten der Guajac bläuenden Peroxydase derselben Extrakte, wie dies weiter unten ausführlicher dargelegt werden wird. Was speziell die zerstörende Wirkung des Lichtes anbetrifft, so sei als Beispiel folgender Versuch angeführt, bei dem zufällig die Flasche mit dem Spermaextrakt kürzere Zeit (ca. 2 Stunden) in der schwachen Morgensonne gestanden hatte, während der Eiextrakt nur diffusem Tageslicht ausgesetzt gewesen war. Ich trug dem Resultat dieses Versuchs, den ich zu Anfang dieser

Untersuchung anstellte, dadurch Rechnung, daß ich die Extrakte meist in einem abgeschlossenen Schranke oder auf ähnliche Weise gleichmäßig im Dunkeln oder Halbdunkeln aufbewahrte.

Tabelle XIII.

Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle V. Versuchsanordnung die gleiche, nur wurde der O-Titer nicht berechnet, sondern es wurden sofort nach der Mischung (ca. $^1/_2$ Minute) 10 ccm entnommen und titriert.

Spermaextrakt			Eiextrakt		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_2	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_2
ca. $^1/_2$	21,2	—	ca. $^1/_2$	20,6	—
15	19,7	0,00212	15	18,4	0,00334
K = ca. 0,0021			K = ca. 0,0033		
Zum Vergleich die K-Werte der frischen Lösungen (Tab. V)					
$K = 0{,}0106$			$K = 0{,}0035$		

Während also der K-Wert für den in diffusem Lichte gestandenen Eiextrakt nur wenig heruntergegangen ist, ist derselbe für den Spermaextrakt nach der 2stündigen schwachen Besonnung so stark gesunken, daß er sogar unter dem K-Wert des Eiextraktes liegt. Dies ist das einzige Mal während dieser Untersuchungen, daß ich einen derartigen Unterschied (Ei-E. > Sp.-E) fand; indessen ist dies Resultat mit Bestimmtheit auf den angegebenen Grund zurückzuführen.

Eine weitere Tatsache endlich, welche sich aus dem Studium der Tabellen ergibt, ist der Umstand, daß entweder die Katalasen der Spermaextrakte gegen die Zerstörung durch Luftsauerstoff und Licht empfindlicher sind als die Eiextrakte, oder aber, daß ganz allgemein konzentriertere Katalaselösungen schneller verderben als verdünntere. Dies geht deutlich beim Vergleich der K-Werte für die frischen und alten Extrakte z. B. aus Tabelle XII hervor. Man findet, daß bei gleichem Alter die Spermaextrakte verhältnismäßig viel mehr an Katalase einbüßen als die Eiextrakte [siehe besonders 3 und (3), sowie 4 und (4)]. Um zu entscheiden, ob es sich hier tatsächlich um eine größere Empfindlichkeit der Spermakatalase (vielleicht wegen der gleichzeitigen Anwesenheit gewisser, die Oxydation der Katalase begünstigender Stoffe im Extrakt) oder nur um eine Konzentrationswirkung handelt,

müßte man von beiderlei Extrakten mit gleichem Katalasengehalt ausgehen. Die genauere Herstellung solcher Extrakte ist indessen mit recht beträchtlichen Schwierigkeiten verknüpft.

IV. Über den relativen Peroxydasengehalt gleichkonzentrierter Sperma- und Eiextrakte.

Wie schon oben erörtert wurde, bin ich bisher nicht imstande gewesen, eine derartig genaue quantitative Methode zur Messung des Peroxydasengehaltes von tierischen Extrakten zu finden, daß eine zahlenmäßige Darstellung meiner Beobachtungen hier möglich wäre. Ich muß mich daher damit begnügen, eine Auswahl der einschlägigen Versuche direkt zu beschreiben und die beobachteten Unterschiede qualitativ zu bezeichnen. Bemerken möchte ich noch, daß ich eine große Anzahl von Versuchen in diesem Sinne angestellt habe, was wegen der relativen Schnelligkeit der Versuchstechnik ja auch angemessen erscheint.

Das allgemeine Resultat dieser Versuche entsprach, wie schon oben angedeutet wurde, dem Verhalten der Katalase insofern, als bei sämtlichen frisch untersuchten Lösungen die Spermaextrakte schnellere und stärkere Bläuung der Guajac-Harzsuspension ergaben als die Eiextrakte. Zum Beleg hierfür seien die folgenden Versuche angeführt:

1. Triton cristatus. Zwei Hoden = 0,070 g + 20 ccm Chloroformwasser; zwei Ovarien = 0,487 g + 140 ccm Chloroformwasser (siehe Tab. V). Es wurden schnell und gleichmäßig gemischt:

2 ccm Spermaextrakt + 2 ccm Chl.-Wasser + 1 ccm $\frac{H_2O_2}{50}$ + 2 Tropfen Guajac-Harzlösung;

2 ccm Eiextrakt + 2 ccm Chl.-Wasser + 1 ccm $\frac{H_2O_2}{50}$ + 2 Tropfen Guajac-Harzlösung[1]).

Die Mischung erfolgte so, daß erst zu beiden in möglichst gleichgroßen usw. Reagensröhren befindlichen Extraktmengen das Wasser, dann zu beiden das H_2O_2, und endlich die Guajaclösung gegeben wurde, wonach tüchtig umgeschüttelt wurde, doch so, daß sowohl eine Berührung mit dem Finger, als auch die Bildung von Luftblasen möglichst unterblieb.

---

[1]) Die Tropfen wurden stets aus derselben Stöpselpipette gegeben; die Guajac-Harzlösung wurde gewöhnlich jede Woche frisch hergestellt. Sie befand sich in einer mit Stanniolpapier mehrmals eingewickelten Flasche und wurde überdies möglichst im Dunkeln gehalten.

Sofort erscheint das Reaktionsgemisch mit Spermaextrakt etwas grünlicher als das mit Eiextrakt. Beide Röhren wurden ins Dunkle gestellt. Nach 14 Stunden erscheint die Sp.-L. (Spermaextraktlösung) schwach grün während die Ei.-L. (Eiextraktlösung) noch durchaus weißlich ist. Beide Röhren in die Sonne gebracht. Nach einer Stunde sind beide Lösungen dunkelgrün; die Färbung tritt schneller ein bei der Sp.-L. als bei der Ei.-L.

2. Tr. cristatus. Zwei Hoden = 0,0505 + 20 ccm Chloroformwasser; ebensoviel Ovar abgewogen und zerrieben (siehe Tab. VI). Beide Extrakte ca. 5 Stunden alt; in schwachem diffusen Tageslicht aufbewahrt.

$$2 \text{ ccm Sp.-E.} + 2 \text{ ccm Wasser} + 2 \text{ ccm } \frac{H_2O_2}{50} + 3 \text{ Tropfen Guajac,}$$

$$2 \text{ ccm Ei-E.} + 2 \text{ ccm Wasser} + 2 \text{ ccm } \frac{H_2O_2}{50} + 3 \text{ Tropfen Guajac.}$$

Fast sofort, d. h. ca. 1 Minute nach der Mischung ein Unterschied: Sp.-L. dunkler und grüner als Ei.-L. Nach 5—10 Minuten außerordentlich deutlicher Unterschied: Sp.-L. > Ei-L. Der Versuch wurde angestellt 7 Uhr 30 Min. abends bei sehr schwacher natürlicher Beleuchtung. Nach ca. 14 Stunden (ca. 5 Stunden Sonne) noch immer deutlicher Unterschied: Ei.-L. erscheint zwar ein wenig bläulicher als Sp.-L., ist aber deutlich heller als Sp.-L. — Von drei Personen außer mir unabhängig derselbe Unterschied festgestellt.

3. Tr. cristatus. Zwei Hoden = 0,182 g (sehr große Exemplare); ebensoviel Ovar abgewogen. Zerrieben mit 20 ccm Chloroformwasser.

$$1 \text{ ccm Sp.-E.} + 1 \text{ ccm Wasser} + 2 \text{ ccm } \frac{H_2O_2}{50} + 3 \text{ Tropfen Guajac,}$$

$$1 \text{ ccm Ei-E.} + 1 \text{ ccm Wasser} + 2 \text{ ccm } \frac{H_2O_2}{50} + 3 \text{ Tropfen Guajac.}$$

Nach ca. 5 Stunden Aufenthalt in diffusem Tageslicht Sp.-L. deutlich blauer und dunkler als Ei.-L., welches noch deutlich einen gelblich-bräunlichen Ton, jedenfalls vom suspendierten Guajac-Harz herrührend, erkennen läßt.

4. Rana esculenta. Zwei Hoden = 0,070 g; ebensoviel Ovar abgewogen; zerrieben mit 30 ccm Chloroformwasser (siehe Tab. II und III).

2 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
2 ccm Ei-E. + 3 Tropfen Guajac.

Nach ca. 10 Minuten Sp.-L. > Ei.-L. Nach ca. 20 Minuten Unter schied noch deutlicher, wenn auch die Färbung in beiden Gläsern ziemlich schwach ist.

5. Dieselben Extrakte wie in 4., ca. 24 Stunden alt.

a) 2 ccm Sp.-E. + 2 ccm Wasser + 3 Tropfen Guajac,
2 ccm Ei.-E. + 2 ccm Wasser + 3 Tropfen Guajac.

Sofort Sp.-L. viel dunkler als Ei.-L. Nach 2 Tagen noch außerordentlich großer Unterschied.

b) Nach weiteren 3 Stunden:

5 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
5 ccm Ei-E. + 3 Tropfen Guajac.

Sofort Sp.-L. deutlich grüner als Ei.-L. Nach 5 Stunden Sp.-L. viel blauer und dunkler als Ei.-L. Nach 20 Stunden der Unterschied immer noch bedeutend. Derselbe Unterschied von unbeteiligter Person festgestellt.

6. Tr. cristatus. Vier Hoden = 0,115 g; ebensoviel Ovar abgewogen; zerrieben mit 40 ccm Chloroformwasser (siehe Tab. VIII).

5 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
5 ccm Ei-E. + 3 Tropfen Guajac.

Nach 10 Minuten Sp.-L. deutlich dunkler als Ei.-L. Nach 5 Stunden der bezeichnete Unterschied sehr deutlich. Derselbe Unterschied von unbeteiligter Person festgestellt.

7. Derselbe Extrakt, 67 Stunden alt (siehe Tab. IX).

a) 4 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
4 ccm Ei-E. + 3 Tropfen Guajac.

Sofort erscheint Sp.-L. etwas grünlicher als Ei.-L. Beide Röhren in diffusem Tageslicht belassen. Nach ca. 1 Stunde Unterschied zwar schwach, aber unverkennbar Sp.-L. > Ei.-L. Nach 5 Stunden **sehr kräftiger** Unterschied.

b) Derselbe Versuch, gleichzeitig angestellt, die Röhren aber ins **Dunkle** gebracht. Nach 1 Stunde beide noch ziemlich weißlich-gelb, aber Sp.-L. zweifellos grünlicher als Ei.-L. Sehr schöner und klarer Unterschied. In diffuses Tageslicht (äußerst schwache Sonne) gebracht; nach ca. 1 Stunde Sp.-L. deutlich grüner als Ei.-L.

8. Tr. cristatus. Zwei Extrakte von gleicher Gewebekonzentration und gleichem Alter, deren Gehaltsbestimmung mir aber verloren gegangen ist.

10 ccm Sp.-E. + 5 Tropfen Guajac,
10 ccm Ei-E. + 5 Tropfen Guajac.

Im Versehen für Sp.-E. ein falsches säurehaltiges Röhrchen genommen, wie daraus hervorgeht, daß die Guajacsuspension im Röhrchen mit Sp.-E. nach 1¼ Stunden koaguliert ist. Ein zweites Röhrchen mit Sp.-E. + G. präpariert. **Dieses ist sofort grüner als das Röhrchen mit** Ei.-L. Derselbe Unterschied deutlich nach 4 Stunden Besonnung; auch noch nach weiteren 6 Stunden Beleuchtung. (Trotzdem das eigentliche Vergleichsröhrchen mit Sp.-E. 1¼ Stunde später angesetzt wurde, tritt sofort eine stärkere Färbung des Sp.-E. auf.)

Die beschriebenen Versuche sollen nur als Beispiele für die Art der Beobachtungen gelten; eine Beschreibung sämtlicher einschlägiger Experimente würde nichts Neues bringen. Mit Absicht habe ich auch einen etwas mißglückten Versuch (8) mit

angeführt, um die Sicherheit und Breite des angegebenen Resultats zu demonstrieren.

Von Einzelheiten seien noch die folgenden angeführt: Wie der Vergleich der Versuchsbeschreibungen von 4 und 5, a und b, ferner von 6 und 7 zeigt, nimmt durch Stehen an der Luft der Gehalt der Extrakte an Guajacperoxydasen deutlich zu, im Gegensatz zu dem allmählichen Verschwinden der Katalase. Hierfür ist besonders lehrreich ein Vergleich der Tabellen VIII und IX mit den Versuchen 6 und 7, insofern als in 6 und Tabelle VIII, sowie in 7 und Tabelle IX dieselben Geschlechtszellenextrakte benutzt würden. Es erscheint mir aus verschiedenen Gründen, auf welche einzugehen hier nicht der Platz ist, wahrscheinlich, daß dies entgegengesetzte Verhalten beider Fermente, welches sich übrigens, wie oben erwähnt wurde, bei Belichtung in noch stärkerem Maße zeigt, kein zufälliges ist, sondern daß vielmehr irgend welche genetische Zusammenhänge zwischen beiderlei Fermenten bestehen.

Was die Größe des beobachteten Unterschieds anbetrifft, so sei nur ein Beispiel angeführt, welches für eine colorimetrische Bestimmung sich insofern als ausnahmsweise günstig erwies, als die Farbe beider Extraktlösungen trotz Verschiedenheit ihrer Tiefe sehr ähnlich war. Verglichen mit einer blaugrünen Skala, welche durch Verdünnen einer konzentrierten Aquarellfarbenlösung hergestellt worden war[1]), ergab sich bei einem Versuch mit Geschlechtszellenextrakten von Tr. cristatus: Sp.-L. hat Farbe von V (recht genau); Ei.-L. hat noch nicht Farbkraft von I. Bei einem zweiten Versuche mit den gleichen, nur etwas älteren Extrakten ergab sich: Sp.-L. hat Farbe von V—VI; Ei.-L. höchstens I.

Endlich seien anhangsweise einige Versuche über den Einfluß der Temperatur auf diese Peroxydasenreaktion erwähnt. Es zeigte sich nämlich, daß beim Stehen in etwas höherer Temperatur als Zimmertemperatur die allmähliche Zunahme der Extrakte an Peroxydase stark beschleunigt wird. Der folgende Versuch ist für dies Verhalten typisch.

---

[1]) Diese für den betreffenden Versuch besonders gemischte Lösung enthielt auch etwas Deckweiß, um hiermit der leichten Trübung der Extraktlösungen nach Guajaczusatz zu entsprechen. Lösung I der Skala enthielt 1 ccm konzentrierte Farblösung + 9 ccm Wasser, Lösung II 2 ccm konzentrierte Farblösung + 8 ccm Wasser usw. bis Lösung X, der reinen Farbstofflösung.

Tr. cristatus. 0,182 g Ovar + 20 ccm Chloroformwasser. 5 ccm Extrakt wurden 12 Stunden bei ca. 15° gehalten, weitere 5 ccm im Thermostaten bei 25°. Darauf wurde zu beiden je 2 ccm $\frac{H_2O_2}{50}$ und 3 Tropfen Guajac gegeben. Während der bei 15° aufbewahrte Extrakt kaum eine Färbung zeigte (jedenfalls nicht während der ersten Stunde nach der Mischung), war der bei 25° gehaltene Extrakt sofort nach Zusatz des Guajac blaugrün gefärbt. Der Unterschied war sofort, d. h. innerhalb der ersten halben Minute nach der Mischung erkennbar.

V. Über den Oxydasengehalt von Mischungen der Sperma- und Eiextrakte.

Es schien mir angesichts der möglichen Mitwirkung der Oxydasen bei den Befruchtungsvorgängen von Interesse, das Verhalten von Mischungen von Sperma- und Eiextrakten bezüglich ihres Gehaltes an Katalase und Peroxydase zu untersuchen. Die Möglichkeit war nicht ausgeschlossen, daß sich schon in vitro irgend welche Einflüsse beider Extraktarten aufeinander nachweisen ließen, Einflüsse, welche vielleicht für die chemische Seite der Befruchtungstheorie von Interesse sein konnten. Obgleich ich meine diesbezüglichen Versuche wegen Mangel an Material nicht für abgeschlossen erachten kann, möchte ich darauf hinweisen, daß die gewonnenen Resultate eine erneute Untersuchung speziell dieses Punktes, vielleicht mit noch geeigneterem Material und vor allen Dingen genauerer quantitativer Peroxydasenbestimmungsmethode, meiner Ansicht nach recht lohnend erscheinen lassen.

Ich gebe zunächst einige Versuche über den Katalasengehalt von Extraktmischungen wieder.

Tabelle XIV.

Tr. cristatus; dieselben Extrakte wie in Tabelle VI, der Versuch gleichzeitig mit den in Tabelle VI beschriebenen angestellt; Versuchsanordnung entsprechend. 1 ccm Spermaextrakt + 4 ccm Eiextrakt sofort nach der Mischung in die H_2O_2-Lösung gegeben.

t (Min.)	$c_{H_2O_2}$	$4343\ k_1$
0	26,28 (berechnet)	—
15	22,2	0,00489
30	20,4	367
45	20,0	264
60	19,6	212
75	19,5	173

$K_{Sp+E} = 0{,}0066$ (graphisch vermittelt)

Hierzu zum Vergleich:

$K_{Sp} = 0{,}0138 \qquad K_E = 0{,}0052.$

Nimmt man an, daß die zwei Extrakte sich gegenseitig nicht irgendwie beeinflussen, sondern daß einfach eine Mischung beider Oxydasenlösungen stattfindet, so ergibt sich aus dem Verhältnis

$$(K_{Sp+E}) = \frac{1\,K_{Sp} + 4\,K_E}{5} = 0{,}0069.$$

Tabelle XV.

Dieselben Extrakte wie in Tabelle XIV (vgl. Tab. VII). 1 ccm Spermaextrakt + 4 ccm Eiextrakt sofort nach der Mischung in die H_2O_2-Lösung gegeben.

t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	25,4 (berechnet)	—
15	21,9	0,00429
30	20,6	332
46	20,0	226
60	19,5	191
75	19,2	162

$K_{Sp+E} = 0{,}0058$ (graphisch ermittelt)

Hierzu zum Vergleich:

$K_{Sp} = 0{,}0121 \qquad K_E = 0{,}0045$

$$(K_{Sp+E}) = \frac{1\,K_{Sp} + 4\,K_E}{5} = 0{,}0060$$

Tabelle XVI.

Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle X. Versuche gleichzeitig angestellt. Versuchsanordnung dieselbe. a) 1 ccm Spermaextrakt + 4 ccm Eiextrakt, b) 2 ccm Spermaextrakt + 3 ccm Eiextrakt, c) 3 ccm Spermaextrakt + 2 ccm Eiextrakt sofort nach der Mischung der H_2O_2-Lösung zugesetzt.

a) 1 ccm Sp.-E. + 4 ccm Ei-E.		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,54 (berechnet)	—
15	25,9	0,00281
30	23,8	263
60	21,0	222
90	19,5	184
(ca. 24 h)	16,3	—

$K^a_{Sp+E} = 0{,}0031.$

b) 2 ccm Sp.-E. + 3 ccm Ei-E.			c) 3 ccm Sp.-E. + 2 ccm Ei.-E.		
t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1	t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,54 (berechnet)	—	0	28,54 (berechnet)	—
15	25,5	0,00326	15	24,4	0,00454
30	23,0	313	30	20,9 (?)	451 (?)
60	20,0	257	60	17,0	375
90	18,2	217	90	14,5	327
(ca. 24 h)	14,8	—	(ca. 24 h)	9,7	—
$K^b_{Sp+E} = 0{,}0036$			$K^c_{Sp+E} = 0{,}0049$[1]		

Hierzu zum Vergleich:

$$K_{Sp} = 0{,}0070 \qquad K_E = 0{,}0018$$

$$(K^a_{Sp+E}) = \frac{1\,K_{Sp} + 4\,K_E}{5} = 0{,}0028$$

$$(K^b_{Sp+E}) = \frac{2\,K_{Sp} + 3\,K_E}{5} = 0{,}0039$$

$$(K^c_{Sp+E}) = \frac{3\,K_{Sp} + 2\,K_E}{5} = 0{,}0049.$$

Tabelle XVII.

Dieselben Extrakte wie in Tabelle XI. 2,5 ccm Spermaextrakt + 2,5 ccm Eiextrakt zusammengegeben, die Mischung 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann zur H_2O_2-Lösung zugegeben.

t (Min.)	$C_{H_2O_2}$	4343 k_1
0	28,5 (berechnet)	—
15	25,4	0,00333
30	23,2	298
60	20,8	228
90	19,3	188

$K_{Sp+E} = 0{,}0040.$

[1]) Die graphische Bestimmung dieses Wertes ist darum etwas fraglich, weil beim Versuch, die in ein Koordinatensystem eingetragenen Konstanten durch eine Kurve zu verbinden, man zwei Kurven erhalten kann, je nachdem man durch die erste oder die zweite Konstante, welche sehr unregelmäßig zueinanderliegen, durchzieht. Indessen ist zweifellos die Führung der Kurve durch die erste Konstante richtiger, weil sich hiermit diese Kurve der Gestalt nach an die andern zwei, naturgemäß gestaltlich nah-

Hierzu zum Vergleich:

$$K_{Sp} = 0{,}0049 \qquad K_E = 0{,}0016$$

$$(K_{Sp+E}) = \frac{2{,}5\,K_{Sp} + 2{,}5\,K_E}{5} = 0{,}00322.$$

In diesen Versuchen ist natürlich eine etwaige Differenz zwischen den berechneten und den gefundenen K-Werten für die Mischungen beider Extraktarten von besonderem Interesse, und ich habe deshalb in folgender Tabelle (Tab. XVIII) die entsprechenden Werte zusammengestellt:

Tabelle XVIII.

Triton cristatus	K_{Sp+E} berechnet	K_{Sp+E} gefunden	Differenz
1. 1 ccm Sp.-E. und 4 ccm Ei-E., sofort nach der Mischung untersucht	0,0069	0,0066	+ 0,0003 = + 4,3 %
2. 1 ccm Sp.-E. und 4 ccm Ei-E. (dieselben wie unter 1, 5 h alt), sofort nach der Mischung untersucht	0,0060	0,0058	+ 0,0002 = + 3,3 %
3. 1 ccm Sp.-E. und 4 ccm Ei-E.	0,0028	0,0031	− 0,0003 = − 9,1 %
4. 2 ccm Sp.-E. und 4 ccm Ei-E.	0,0039	0,0036	+ 0,0003 = + 7,7 %
5. 3 ccm Sp.-E. und 2 ccm Ei-E. Alle drei sofort nach der Mischung untersucht	0,0049	0,0049 (?)	—
6. 2,5 ccm Sp.-E. und 2,5 ccm Ei-E. Die Mischung 4 Stunden lang stehen gelassen, dann untersucht	0,00325	0,0040	− 0,00075 = − 23,1 %

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß bei **sofortiger** Untersuchung des Gemisches unter fünf Fällen drei waren, in denen die Differenz zwischen berechnetem und beobachtetem K-Werte positiv, ein Fall, bei dem Beobachtung und Rechnung übereinstimmten, und ein Fall endlich, in dem die Differenz negativ

verwandten Kurven anschließt. Im andern Falle, bei Benutzung der zweiten Konstante und Vernachlässigung der ersten, resultiert eine stark gebogene Kurve, während die zwei Kurven für die andern K-Werte, sowie die mit Benutzung der ersten und Vernachlässigung der zweiten Konstante gezogene Linie alle drei fast Gerade darstellen.

waren. D. h. in drei unter fünf Fällen wurde in den Gemischen weniger Katalase gefunden, als man erwarten sollte, wenn beide Extrakte sich bei Mischung vollständig indifferent zueinander verhielten, in einem Fall war kein Unterschied zu beobachten, und in einem Falle wurde mehr Katalase gefunden. Die positiven Unterschiede betrugen 4,3, 3,3 und 7,7%, der negative Unterschied 9,1%. Obgleich ich diese Versuche wegen der Kleinheit der beobachteten Differenzen noch nicht für abgeschlossen erachten kann, spricht das Verhältnis 3 : 1 dafür, daß bei Mischung und sofortigem Zusatz zur H_2O_2-Lösung die Katalasen beider Extrakte sich entweder in ihrer Tätigkeit hemmen oder bei gleichzeitiger Wirkung empfindlicher gegen die Zerstörung durch das Peroxyd werden.

Bei dem einzigen Versuch, bei dem die Extrakte einige Zeit (4 Stunden) vor ihrer Untersuchung zusammenbelassen worden waren, ergab sich zwischen dem berechneten und dem gefundenen K-Werte die außerordentlich große negative Differenz von 23,1%. Dieser Unterschied ist natürlich unmöglich auf Versuchsfehler zurückzuführen und besagt, daß bei längerem Einwirken aufeinander Sperma- und Eiextrakte eine Mischung ergeben, welche entweder durch Bildung neuer Katalase den Gehalt der Lösung vergrößert, oder aber günstigere Reaktionsbedingungen, vielleicht auch Schutzwirkungen gegen die Oxydation des Fermentes durch H_2O_2 enthält. Ich bedaure lebhaft, daß ich aus Mangel an Material nach Berechnung dieses wichtigen Versuchs nicht imstande war, ihn zu wiederholen und zu variieren. Sollte sich diese Tatsache der gegenseitigen Aktivierung von Sperma- und Eimaterial in bezug auf das peroxydzersetzende Ferment in vollem Umfange bestätigen (die Größe des gefundenen Unterschieds berechtigt dies wahrscheinlich zu finden), so hätten wir hiermit einen nicht unwichtigen Fingerzeig auf einen Teil der oxydativen Vorgänge bei der Befruchtung.

Was das Verhalten der Guajacperoxydase in Mischungen beider Extrakte anbetrifft, so ergaben sich hier trotz des Mangels einer eigentlich quantitativen Bestimmungsmethode im ganzen viel deutlichere und sichere Resultate.

9. Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle V. Es wurden zwei gleiche Reihen von Mischungen hergestellt (I und II). Die Reihe I

wurde ca. 10 Minuten nach der Mischung untersucht, die Reihe II nach dreistündigem Stehen der Mischungen.

a) 4,5 ccm Ei-E. + 0,5 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
b) 4,0 ccm „ + 1,0 ccm „ + 3 „ „
b) 3,0 ccm „ + 2,0 ccm „ + 3 „ „
d) 2,0 ccm „ + 3,0 ccm „ + 3 „ „
e) 1,0 ccm „ + 4,0 ccm „ + 3 „ „
f) 5,0 ccm „ + 3 Tropfen Guajac,
g) 5,0 ccm Sp.-E. + 3 „ „

I. Zusatz von Guajac ca. 10 Minuten nach der Mischung. Sofort zunächst g (Sp.-E.) viel blaugrüner als f (Ei-E.). Dann c (3,0 ccm Ei-E. + 2,0 ccm Sp.-E.) am dunkelsten, und zwar *dunkler als* g (Sp.-E.). g rangiert zwischen a und b und ist a = d. Reihenfolge nach ca. 15 Minuten

$$c > b > d \sim g \sim e > a > f,$$

f bei weitem am hellsten. Nach ca. 2 Tagen ist dieselbe Reihenfolge vielleicht noch deutlicher vorhanden.

II. Zusatz von Guajac ca. 3 Stunden nach der Mischung. Sofort g (Sp.-E.) deutlich grüner als f (Ei.-E.); am *stärksten* gefärbt (gelblichgrün) aber c und d.

Nach 5 Stunden $c \sim d$ am dunkelsten; g (Sp.-E.) erscheint zwar etwas bläulicher, gleichzeitig aber (bei Durchsicht) viel heller.

Nach 20 Stunden g außerordentlich viel dunkler als f. Ferner c und d am dunkelsten von *allen*. Reihenfolge von mir festgestellt:

$$c \sim d > g > b \sim e > a > f.$$

Von einer andern Person wurden die ersten drei Lösungen rangiert:

$$c > d > g$$

10. Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle VIII und Versuch 6. Die Mischungen wurden ca. 10 Minuten nach ihrer Herstellung untersucht.

a) 4,5 ccm Ei-E. + 0,5 ccm Sp.-E. + 3 Tropfen Guajac,
b) 4,0 ccm „ + 1,0 ccm „ + 3 „ „
c) 3,0 ccm „ + 2,0 ccm „ + 3 „ „
d) 2,0 ccm „ + 3,0 ccm „ + 3 „ „
e) 1,0 ccm „ + 4,0 ccm „ + 3 „ „
f) 5,0 ccm „ + 3 Tropfen Guajac,
g) 5,0 ccm „ + 3 „ „

Sofort g (Sp.-E.) dunkler als f (Ei-E.), ferner b *bei weitem am dunkelsten von allen Lösungen*.

Nach 5 Stunden: g deutlich dunkelgrüner als f, von den übrigen $b \sim c$ bei weitem am dunkelsten und intensivsten gefärbt; b auch fraglos grüner als g. Reihenfolge:

$$b \sim c > a > g > e \sim f \sim d.$$

Von einer unbeteiligten Person wurde die Reihenfolge angegeben:

$$b > c > g > a \sim f > d \sim e.$$

Auf Verlangen, die dunkelste resp. tiefgefärbteste Lösung zu bezeichnen, wurde sofort b ergriffen.

11. Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle X; sofort nach der Mischung untersucht.

a) 8 ccm Ei-E. + 2 ccm Sp.-E. + 5 Tropfen Guajac,
b) 6 ccm „ + 4 ccm „ + 5 „ „
c) 4 ccm „ + 6 ccm „ + 5 „ „
d) 10 ccm „ + 5 Tropfen Guajac,
e) 10 ccm „ + 5 „ „

Sofort b und c am dunkelsten; e > d. Derselbe Unterschied, nur noch deutlicher nach 1 Stunde. Nach 20S tunden, während welcher die Röhren 4 Stunden schwacher Sonne ausgesetzt gewesen waren, ist die Reihenfolge:

c > b > e > a > d.

Nach weiteren 6 Stunden Sonne dieselbe Reihenfolge. (Diese Reihenfolge wurde unabhängig von der ersten, d. h. bei zugedeckten Etiketten festgestellt.)

12. Tr. cristatus. Dieselben Extrakte wie in Tabelle VI und Versuch 2. Die Mischungen wurden nach 5stündigem Stehen untersucht.

a) 2 ccm Sp.-E. + 2 ccm W. + 2 ccm $\frac{H_2O_2}{50}$ + 3 Tr. G.
b) 2 ccm Ei-E. + 2 „ + 2 „ „ + 3 „
c) 1 ccm Sp.-E. + 1 ccm Ei-E. + 2 ccm W. + 2 ccm $\frac{H_2O_2}{50}$ + 3 Tr. G.

Sofort (in der ersten Minute) ein deutlicher Unterschied: c > a > b. Nach ca. 10 Minuten außerordentlich deutlicher Unterschied: c > a > b; c ist fraglos das blaugrünste. (Angestellt bei sehr schwacher natürlicher Beleuchtung, 7 Uhr 30 Min. abends.) — Nach ca. 14 Stunden (ca. 5 Stunden Sonne) noch immer c > a > b. b (Ei-E.) erscheint zwar etwas bläulicher als a, ist aber bedeutend schwächer gefärbt und heller. c bei weitem am blausten und dunkelsten. Von drei Personen außer mir in der angegebenen Reihenfolge rangiert.

Es ergibt sich aus diesen Versuchen also mit voller Bestimmtheit, daß Mischungen von Sperma- und Eiextrakten in bestimmten Verhältnissen eine stärkere Reaktion auf Guajac-Harz zeigen, als die einzelnen Extrakte bei sonst vollständig gleichen Versuchsbedingungen. Betrachten wir eine Lösung von Peroxydasen als um so konzentrierter, je stärker ihre Reaktion auf suspendiertes Guajac-Harz ist, so würde aus diesen Versuchen folgen, daß Mischungen von Sperma- und Eiextrakten mehr Peroxydase, oder aber dieselbe in einem „aktivierteren“ Zustande enthalten, als sie unter der Voraussetzung besitzen würden, daß die zwei Extrakte sich nicht irgendwie beeinflußten.

Was den Einfluß der Dauer des Zusammenbleibens der Extrakte vor der Untersuchung anbetrifft, so bin ich nicht imstande gewesen, irgend welche deutliche Unterschiede zu finden. In Versuch 9, bei welchem zwei Versuchsserien angestellt wurden, welche sich nur dadurch voneinander unterschieden, daß die Mischungen der ersten Reihe sofort, die der zweiten nach dreistündigem Stehen untersucht wurden, ließ sich nur feststellen, daß die älteren Mischungen einen mehr grünlichen Farbton ergaben im Gegensatz zu den mehr bläulichen frischeren Extrakten. Immerhin halte ich eine eingehende Untersuchung dieses Punktes für sehr wünschenswert.

Fernerhin ist von Interesse, daß nicht Mischungen von beiden Geschlechtszellenextrakten in beliebigen Verhältnissen stärkere Farbenreaktionen ergaben als die Komponenten, sondern nur Mischungen, in denen die Mengen der Extrakte sich verhielten wie

$$\frac{\text{Sp.-E.}}{\text{Ei-E.}} = \left(\frac{2}{3}, \frac{1}{4}, \frac{3}{2}\right), \left(\frac{3}{2}, \frac{2}{3}\right)$$
$$= \left(\frac{1}{4}, \frac{2}{3}, \frac{0,5}{4,5}\right)$$
$$= \left(\frac{2}{3}, \frac{2}{3}\right)$$
$$= \frac{1}{1}$$

Diese Mischungsverhältnisse, welche also eine stärkere Reaktion als eine ihrer Komponenten ergaben, sind nur in drei Fällen unter 11 über 1, und es ist dabei sehr fraglich, ob bei einer Versuchsanordnung mit kleineren Konzentrationsintervallen (also z. B. $\frac{2,0}{3,0}, \frac{2,5}{2,5}, \frac{3,0}{2,0}$ usw.) der Wert des Verhältnisses überhaupt über 1 herausgekommen wäre. Auf der anderen Seite wurde kein Gemisch mit den Verhältnissen $\frac{3,5}{1,5}, \frac{4,0}{1,0}, \frac{0,5}{4,5}$ gefunden, welches eine stärkere Reaktion als die stärkere ihrer Komponenten (Sp.—E.) ergeben hätte. Man kann also allgemein sagen, daß nur die Gemische von Eiextrakt mit höchstens ebensoviel Spermaextrakt, besser aber mit weniger eine stärkere Reaktion als ihre Komponenten zeigen. Dies ist um so bemerkenswerter, als ja gerade die Komponente, welche im Überschuß vorhanden sein

muß, der Eiextrakt, allein eine schwächere Peroxydasenreaktion zeigt, als der in geringerer Konzentration vorhandene Spermaextrakt, wie dies aus den gleichzeitig festgestellten diesbezüglichen Unterschieden bei jedem Versuche hervorgeht.

Zum Schluß des experimentellen Teiles dieser Untersuchungen möchte ich noch das Folgende bemerken. Ich bin, wie bisher wohl jeder, der sich mit den chemischen oder physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Arten von Geschlechtszellen beschäftigt hat, an diese Untersuchungen mit der Absicht resp. der Erwartung gegangen, irgend welche qualitative Unterschiede, sei es das Fehlen einer der beiden oxydativen Fermente oder sei es ein umgekehrtes Mengenverhältnis beider Fermente in den zweierlei Geschlechtszellen usw., aufzufinden. Im Gegensatz zu diesen Erwartungen ließen mich die Versuche nur quantitative Unterschiede, allerdings aber solche von ausgesprochener Größe und zweifelloser Einsinnigkeit erkennen. Vielleicht kann dieser Umstand, resp. diese Art von Enttäuschung, als günstig für die Schärfe der hier mitgeteilten Beobachtungen angesehen werden. Wenn also aus diesen Versuchen das „gegensätzliche Wesen“ der zwei Arten von Geschlechtszellen sich ebenfalls nicht hat erklären lassen[1]), so glaube ich dennoch, daß die gefundenen Unterschiede imstande sind, einige Fingerzeige auf die Rolle der Geschlechtszellen bei der natürlichen sowie „künstlichen“ Befruchtung resp. Entwicklungserregung zu geben. Ein deratriger Versuch soll im folgenden Abschnitt gemacht werden.

VI. Über die Rolle oxydativer Fermente bei den Vorgängen der Befruchtung und Entwicklungserregung.

1. Im Jahre 1905 publizierten Martin H. Fischer und ich[2]) eine theoretische Untersuchung, in der wir zu dem Resultate gelangten, daß die für die Befruchtung und künstliche Entwicklungserregung charakteristische Astrosphärenbildung ein Koagulations-

---

[1]) Vgl. z. B. Burian, Chemie der Spermatozoen, II. Ergebn. d. Physiol. 5, 838, 1906: „Im besonderen sind alle von chemischer Seite öfter unternommenen Versuche, die Befruchtung durch die Gegenwart einander ergänzender Stoffe im Ei und Sperma zu erklären, heute als endgültig abgetan zu betrachten.“

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 106, 229ff., 1905.

vorgang, und zwar eine orientierte und lokalisierte Gelbildung sei.[1]) Das Beweismaterial, auf Grund dessen wir diese Theorie auf-

[1]) Der Einwand von Burian (Ergebn. d. Physiol. 5, 809ff., 1906), daß diese Definition der Befruchtung als Astrosphärenbildung nicht genügend sei, weil nicht umgekehrt jede Astrosphärenbildung zur Entwicklung führt, erscheint mir nur zum Teil berechtigt. (Gemeint sind dabei die Lillieschen Versuche über vielfache und multipolare Astrosphärenbildungen, sowie die entsprechenden Erfahrungen bei den unvollkommeneren und einfacheren Verfahren der künstlichen Entwicklungserregung der Astrosphärenbildung durch Fettsäuren usw.) Denn wir haben nur die Ansicht ausgesprochen, daß der morphologische Vorgang der Entwicklungserregung eine Astrosphärenbildung resp. Koagulationswirkung ist, welche wir des näheren als lokalisiert und orientiert zu bezeichnen versuchten; keineswegs aber haben wir das Umgekehrte dieses Satzes ausgesprochen, daß nämlich nun jede lokalisierte, orientierte Gel- oder Astrosphärenbildung notwendigerweise den Anlaß zur Zellteilung geben muß. Daß uns diese von Burrian scheinbar für notwendig angesehene Umkehrung unserer morphologischen Definition der Entwicklungserregung durchaus fern gelegen hat, geht schon daraus hervor, daß wir eine ganze Anzahl von künstlichen Astrosphärenbildungen anführten, welche doch sicher nicht zur Zellteilung Anlaß geben, z. B. die Astrosphären in Holundermarkzellen nach A. Fischer, die Astrosphären erstarrender Gelatineemulsionen nach Bütschli usw. Wohl aber geht aus der Unmöglichkeit, diese Definition umzukehren, hervor, daß sie noch nicht vollständig genug, mit andern Worten noch zu weit ist. Die größere oder geringere Weite einer Definition kann aber nicht als Argument für oder gegen ihre Richtigkeit angeführt werden, namentlich nicht dann, wenn die Frage, ob zunächst einmal diese allgemeine und gewiß nicht erschöpfende Definition den Tatsachen angemessen ist, noch zu behandeln ist. Uns erschien zunächst diese allgemeinere Frage wichtig und schwierig genug. Daß die Entwicklungserregung in irgend einer beliebigen Astrosphärenbildung besteht, haben wir nirgends ausgesagt, sondern wir haben im Gegenteil versucht, insbesondere durch den Begriff „lokalisiert“ die besondere Art dieser Astrosphärenbildung näher zu definieren. Daß wir bisher nicht imstande gewesen sind, alle Besonderheiten dieser speziellen Astrosphärenbildung zu ermitteln, kann uns nicht zum Vorwurf gemacht werden, da zunächst einmal die Feststellung der allgemeinen Übereinstimmung dieses morphologischen Charakteristikums der Entwicklungserregung mit den Vorgängen einer orientierten Koagulation uns als erste und genügend weitreichende Aufgabe erschien. — Übrigens haben Fischer und ich nirgends behauptet, daß wir mit unserer Theorie die Erscheinungen der Entwicklungserregung „erschöpfend“ darzustellen imstande wären, wie Burian meint, wie z. B. aus folgendem Satz hervorgeht (l. c. S. 264): „Andererseits sind wir der Meinung, daß die hier versuchte Zusammenfassung, wenn auch vielleicht nicht sämtlicher, so doch der wesentlichsten physiologischen Befruchtungserscheinungen usw.“

stellten, war insbesondere zweierlei Art. Erstens wiesen wir darauf hin, daß die Bildung von Astrosphären in kolloiden Systemen, zu denen auch die Eizelle gehört, oft, und was die Dynamik sowie die Einzelheiten des Vorganges anbetrifft, in erstaunlicher Übereinstimmung in toten kolloiden Systemen, wie Gelatine, Eiweiß usw., künstlich nachgeahmt worden ist (Bütschli, A. Fischer, Rhumblex usw.). Wir betonten auf Grund einer Analyse der Teilvorgänge dieser Bildungen, z. B. an der Hand der Versuche von Bütschli und Hardy, über orientierte Koagulation kolloider Systeme (durch Zug, Druck, Diffusion usw.), daß diese Übereinstimmung leicht erklärlich ist, wenn man sich nicht scheut, die Konsequenzen der Anschauungen, daß das Eiplasma ein Gemisch kolloider Lösungen ist, zu ziehen[1]). Einigt man sich über diese physikalisch-chemische Definition der Kolloidnatur des Plasmas (und ich glaube nicht, daß es heute viele Forscher gibt, welche sich dieser Anschauung nicht anschließen werden), so ist eine Konzentrierung des Plasmas, wie sie in der Astrosphärenbildung zum Vorschein kommt, notwendigerweise (weil definitionsgemäß) ein Koagulationsvorgang, da jede Konzentrierung, d. h. Oberflächenverkleinerung eines gelösten Kolloids eben Koagulation derselben genannt worden ist. Es erübrigt nur noch, die besonderen Eigentümlichkeiten gerade dieser Kolloidkonzentrierung festzustellen, und wir haben durch Einführung der Begriffe „orientiert“ und „lokalisiert“ dies zu tun versucht.

Der zweite Punkt, der uns, wie wir glauben, berechtigte, die genannte Theorie aufzustellen, d. h. die Erscheinungen der natürlichen und künstlichen Entwicklungserregung unter den genannten Gesichtspunkten zu betrachten, war die Tatsache, daß sämtliche Mittel, welche eine Entwicklungserregung hervorzurufen imstande waren, auch zur Hervorrufung von Koagulationen in toten kolloiden Systemen benutzt werden konnten. Ja es ergab sich, daß dieser Satz fast umgekehrt werden konnte, indem es kaum ein Koagulationsmittel für Eiweißlösungen gab, welches nicht umgekehrt imstande war, bei geeigneter Anwendung künstliche Entwicklungserregung zu veranlassen. Wo diese Umkehrung nicht zutrifft, z. B. bei der Koagulationswirkung des elektrischen

[1]) Es ist vielleicht nicht überflüssig, hervorzuheben, daß wir nirgends gesagt haben, das Eiplasma sei nur oder nichts weiter als ein System von (Emulsions-) Kolloiden.

Stromes, ist der Grund einleuchtend, da die Astrosphärenbildung ja eine orientierte Gelbildung ist, und sich einstweilen keine derartige Orientierung des elektrischen Stromes technisch verwirklichen läßt.

Es ist für den vorliegenden Zweck nötig, kurz zu wiederholen, welche Koagulationsmittel wir bei der an dieser Stelle besonders in Betracht kommenden Methode der Entwicklungserregung, der natürlichen Befruchtung, annahmen (l. c. S. 253—254):

„Bei dem Versuche der Einreihung des Spermatozoons in eine unserer obigen Klassen gelbildender Faktoren haben wir dem Umstand Rechnung zu tragen, daß im Spermatozoon wenigstens zwei oder drei solcher zu unterscheiden sind.

1. Das Mittelstück ist sicher, wie das ganze Spermatozoon im allgemeinen, eine kolloidale Substanz resp. ein Gemisch solcher, d. h. wir haben hier Wirkung von Kolloid auf Kolloid vor uns; eventuell könnten diese Spermakolloide, wie schon Loeb hervorgehoben hat, enzymartiger Natur sein, wie z. B. die Koagulation von Albuminosen und Peptonen durch die kolloidalen Fermente Papayotin, Trypsin und Pepsin in Gegenwart von Salzsäure usw. lehrt.

2. Das Mittelstück enthält, wie das ganze Spermatozoon, bekanntlich Salze, welche möglicherweise mit dem Kolloid zusammenwirken. Auch auf das Vorhandensein dieser Stoffe im Spermatozoon sowie auf die Möglichkeit irgend einer Rolle derselben bei der Befruchtung ist schon von J. Loeb hingewiesen worden.

3. Endlich kommt als dritter gelbildender Faktor die mechanische Erschütterung des Eiplasmas durch das Spermatozoon hinzu. Auf eine mechanische Wirkung des Spermatozoons ist besonders von Meltzer hingewiesen worden, allerdings ohne daß von diesem Autor, wie in den beiden vorhergehenden Fällen, etwas dieser Theorie Entsprechendes über das Wesen dieser Wirkungen ausgesprochen worden wäre.

Eine endgültige Entscheidung, welchem von diesen drei gelbildenden Faktoren die Hauptrolle bei der Astrosphärenbildung zuzuschreiben ist, kann auf Grund der bisher vorliegenden Tatsachen noch nicht gegeben werden."

Bei der natürlichen Parthenogenese sahen wir, soweit nicht gleichzeitig die bei manchen Eiern zur Entwicklungs-

erregung notwendigen Prozeduren des Austrocknens, Ausfrierens, einer vorübergehenden Temperaturerhöhung usw. als Koagulationsmittel anzusehen sind, in der vielfach beobachteten „Selbstbefruchtung" parthenogenetischer Eier durch Wiedereinziehung eines der bereits ausgestoßenen Richtungskörper den eigentlichen zur Astrosphärenbildung führenden Koagulationsvorgang, und stellten ihn, wie dies morphologisch bereits vielfach geschehen ist, auch physikalisch-chemisch in bezug auf die ihn verursachenden Koagulationsmittel in Parallele zur natürlichen Entwicklungserregung. Was die sehr verschiedenen Methoden der künstlichen Entwicklungserregung, insbesondere die durch Wasserentziehung, spezifische Salze, Säuren und Alkalien, Chloroform, Äther, Alkohol usw. anbetrifft, so zeigten wir, daß alle diese Mittel auch in vitro imstande sind, Eiweißstoffe zu koagulieren, und nahmen daher eine entsprechende Wirkungsweise auch bei den Eiweißstoffen der Eizelle an. In bezug auf die Mechanik der Astrosphärenbildung durch Wasserentziehung, welch letztere Methode durch die gleiche Wirksamkeit isotonischer Lösungen verschiedener Elektrolyte (Salze) und Nichtelektrolyte charakterisiert wurde[1]), nahmen wir an, daß das gelbildende Mittel in der Konzentrationserhöhung der in der Eizelle vorhandenen Kolloide, oder der ebenfalls in ihr vorhandenen Elektrolyte zu suchen ist (l. c. S. 256, 257). Da sich bisher kaum reine, d. h. elektrolytfreie kolloide Lösungen haben herstellen lassen, ja die Anwesenheit von Elektrolyten als „Solbildnern" in kolloiden Lösungen von gewissen Autoren (z. B. Duclaux jun., Jordis) als notwendig erklärt wird (wenn schon direkte und systematische Untersuchungen und Beweise für diesen Satz in seiner extremen Form noch fehlen), so waren wir geneigt, entsprechend dieser Tatsache, die Wirkung der Wasserentziehung mehr in dem Effekt der konzentrierteren Lösung des im Innern der Zelle gelösten Elektrolyte, als in einer nur durch Konzentrationserhöhung der Eikolloide bestehenden direkten Kolloidkonzentrierung zu erblicken. Ja wir gingen sogar so weit, zu sagen: „Da nun in der Literatur kein Beispiel zu finden ist, bei dem mit Sicherheit bei einer Konzentrationserhöhung des Sols auch eine solche gelöster Elektrolyte ausgeschlossen ist, so halten wir es für richtig,

---

[1]) Siehe J. Loeb, Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese.

diese Methode mit der nächsten Klasse der Befruchtungsmodi, mit der Klasse der spezifischen Salzwirkungen[1]), zusammenzufassen" (l. c. S. 236). Wie aus dem Folgenden hervorgeht, bin ich nur mit gewisser Einschränkung bereit, den letzteren Satz in seiner extremen Form aufrecht zu erhalten.

2. Auf der anderen Seite hat nun J. Loeb in den letzten Jahren eine Reihe wichtiger Arbeiten veröffentlicht, in denen er auf Grund zum Teil äußerst geistreicher Versuche zu dem Schluß kommt, daß das „Wesen" der Entwicklungserregung chemischer Natur sei, und daß die Wirkung des Spermatozoons, sowie der künstlichen Methoden der Entwicklungserregung darin bestehe, im unbefruchteten Ei schon vorhandene Oxydationsvorgänge zu beschleunigen, resp. „dieselben in die richtigen Bahnen zu leiten". Diese Anschauung gründet sich insbesondere auf die Notwendigkeit des Sauerstoffs sowohl bei der natürlichen als z. B. auch bei der osmotischen Entwicklungserregung, ferner auf die bemerkenswerte Rolle des oxydationshindernden HCN, die Säurebildung des Eies während der Furchung usw. Man wird zunächst zugeben

---

[1]) J. Loeb irrt also durchaus, wenn er sagt (Arch. f. Entwicklungsmechanik **23**, 1907), wir hätten „behauptet", daß die osmotische Entwicklungserregung „rein physikalisch" durch Wasserentziehung vor sich gehe. Abgesehen davon, daß man eine „Theorie" schwerlich eine „Behauptung" nennen kann, haben wir die durch Wasserentziehung bewirkte Astrosphärenbildung (durch Fällung der gelösten Kolloide durch Überschreiten ihrer Löslichkeitsgrenze resp. durch die koagulierende Wirkung der im Innern der Eizelle gelösten Stoffe, Elektrolyte, Fermente usw., bei Konzentrationserhöhung derselben) ebensowenig als „rein physikalisch" bezeichnet, als wir die mannigfaltigen Koagulationserscheinungen von Kolloiden überhaupt als „rein physikalische" weder gedeutet haben, noch es zu tun imstande wären. Wenn irgend welche Erscheinungen, dann sind die Koagulationswirkungen „physikalisch-chemische", d. h. von der chemischen Natur der beteiligten Stoffe weitgehend abhängige Vorgänge, und Loeb selbst ist, wie z. B. aus dem einschlägigen Kapitel in seiner „Dynamik der Lebenserscheinungen" hervorgeht, mehr als z. B. ich geneigt, die chemische Seite der Koagulationsvorgänge zu betonen. In diesem Sinne haben wir nie von einer „rein physikalischen" Befruchtungs-(Entwicklungserregungs-)Theorie, sondern stets nur von einer „physikalisch-chemischen" Theorie gesprochen, im Gegensatz auch zu der Loebschen „chemischen" Befruchtungstheorie, nach der „das Wesen der Entwicklungserregung bei der Befruchtung wie bei der künstlichen Parthenogenese in einer Beschleunigung von Oxydationsprozessen im Ei besteht" (diese Zeitschr. **1**, 205, 1906).

müssen, daß diese Theorie der Entwicklungserregung mit der Benutzung der Begriffe „Wesen" einer Erscheinung und „falschen und richtigen Oxydationsvorgängen" noch einigermaßen unbestimmt ist. Auch die verschiedenartigen näheren Modifikationen dieser Theorie, welche sich zerstreut in J. Loebs Abhandlungen finden (ein oder mehrere Katalysatoren, Oxydasen (diese Zeitschr. 2, 40, 1906) einschließlich anderer Stoffe und Fermente, positive und negative Katalysatoren usw. ermöglichen keine bestimmtere Definition dieser chemischen Theorie der Entwicklungserregung. Halten wir uns an die allgemeine Definition, daß das „Wesen der Entwicklungserregung in der Anregung resp. Beschleunigung von Oxydationsvorgängen im Ei besteht"[1]), so ergibt sich folgender Einwand. Unter dem „Wesen" einer Erscheinung ist zweifellos das für die Erscheinung „Charakteristische", dieselbe von anderen Auszeichnende zu verstehen. Ich bin aber nicht imstande einzusehen, wie die allgemeine Konstatierung von Anregungen und Beschleunigungen von Oxydationsprozessen für die Erscheinungen der Entwicklungserregung charakteristisch sein soll, da doch unzweifelhaft z. B. im fertigen Organismus in den verschiedenen Organen ebenfalls eine Fülle von Anregungen, Beschleunigungen und Verzögerungen von Oxydationsprozessen vor sich gehen. Man braucht sich in diesem Zusammenhange nur z. B. an die spezifische Verteilung oxydativer Fermente in den einzelnen Organen (nach den Untersuchungen von Jacquet, Spitzer, Jolles u. a.), an die Oxydationsvorgänge bei pathologischen Stoffwechselbedingungen usw. zu erinnern. Ich glaube, daß diese „rein chemische" Definition der Entwicklungserregung einen ähnlichen Charakter hat, wie seinerzeit das berühmte Berthelotsche Prinzip, nach welchem alle chemischen Reaktionen eindeutig nach ihrer Wärmetönung charakterisierbar sein sollten. Es soll hiermit gewiß nicht die Notwendigkeit und die fundamentale Wichtigkeit der Oxydationsvorgänge während der Entwicklung des Eies in Abrede gestellt werden, ebensowenig wie die physikalische Chemie die Wärmetönungen chemischer Prozesse vernachlässigt, sondern in ihnen außerordentlich weittragende Beziehungen er-

[1]) J. Loeb, Untersuchungen über die künstliche Parthenogenese, Leipzig 1906, Vorrede. Über die sich hier findende weitere Spezialisierung, „sowie der Synthese von Nucleinsubstanzen aus Protoplasmabestandteilen", siehe im Text später.

blickt. Nur vermag ich in der Feststellung des integrierenden Vorhandenseins oxydativer Prozesse bei der Entwicklungserregung, da auch andere Faktoren, wie Wasser, Salze, H- oder OH-Ion notwendig, und vor allen Dingen nicht nur für diese biologischen Vorgänge notwendig und charakteristisch sind, etwas zu erblicken, was diese Vorgänge vor anderen biologischen Erscheinungen auszeichnet, dieselben von anderen unterscheidet, wie es doch jedenfalls eine Theorie ihres „Wesens" tun soll. Selbst wenn es einmal gelänge, zahlenmäßig die Stärke, Beschleunigung usw. dieser Oxydationsprozesse auszudrücken, sowie bei Benutzung der gleichen Materialien in gleicher Zusammensetzung die gleichen Oxydationsvorgänge im Reagensrohr auszuführen (dies ist offenbar das Ideal einer „rein chemischen" Befruchtungstheorie), so würde ein System von Oxydationsgleichungen nicht als Erklärung für die Entwicklungserregung, d. h. für die Astrosphärenbildung, Kernteilung, Membranwachstum, Zellteilung usw. dienen können — solange nicht noch eine Anzahl weiterer Bedingungsgleicungen hinzukommt, welche besagen, daß diese Oxydationsprozesse zur Abscheidung z. B. konzentrierterer oder ungelöster Plasmaprodukte, d. h. aber eben zur Entstehung von Koagulationsprodukten und -Strukturen führen.

Indessen ist noch ein anderer allgemeiner Einwand gegen jede „rein chemische" Theorie der Entwicklungserregung zu machen. Die Entwicklung eines Eies ist, angefangen mit dem Vorgang der Kernverschmelzung bei der natürlichen Befruchtung oder mit der Bildung von Astrosphären bei allen Methoden der Entwicklungserregung, einstweilen nur morphologisch charakterisierbar. Wir wissen wohl, daß eine große Anzahl chemischer Prozesse gleichzeitig vor sich gehen und gehen müssen, um z. B. die Synthese der unter den Bedingungen des Eies unlöslichen oder doch weniger löslichen Nucleinsubstanzen zu ermöglichen, und auf die oxydativen Vorgänge während der Entwicklungserregung ist ja von J. Loeb besonders nachdrücklich hingewiesen worden. Indessen finden bei allen Zellteilungserscheinungen derartige Vermehrungen der Nucleinbestandteile der Zellen statt, d. h. auch diese Definition der Entwicklungserregung würde zu weit sein, und muß selbst zur Unterscheidung von den so überaus nahe verwandten Erscheinungen des Gewebewachstums noch näher charakterisiert werden. Diese Charakterisierung ist aber einst-

weilen nur mit morphologischen Mitteln möglich, insofern als einstweilen die Eizelle, die Furchungszellen, sowie das Embryonalgewebe eben nur morphologisch unterschieden und definiert werden können. Auch die Kriterien, mittels derer z. B. die Brauchbarkeit oder allgemein die Wirksamkeit irgend einer Methode der Entwicklungserregung untersucht werden kann, sind einstweilen nur morphologische, indem z. B. auch Loeb nur die Anzahl der gebildeten Zellen in der Zeiteinheit oder die Anzahl überhaupt der gebildeten Zellen, das „normale" oder „abnorme" Aussehen der resultierenden Larven, die „schwarze" Cytolyse oder die Cytolyse durch „Schattenbildung" usw., nicht aber z. B. die Größe des respiratorischen Koeffizienten, die Geschwindigkeitskonstante der Nucleinsynthese usw. als Charakteristikum für die stattgehabten Einflüsse anzuführen vermag. Wennschon durchaus nicht in Abrede gestellt werden soll, daß eine Kenntnis dieser rein chemischen Vorgänge von außerordentlicher Wichtigkeit für die Erkenntnis der Entwicklungserregung ist (die in vorliegender Abhandlung beschriebenen Versuche sind ja selbst ein Beitrag zu dieser Gruppe von Erscheinungen), so möchte ich doch mit allem Nachdruck betonen, daß eine „rein chemische" Theorie der Entwicklungserregung darum nicht der Wirklichkeit angemessen ist, weil die betreffenden biologischen Erscheinungen keine „rein chemischen" sind, sondern physikalisch-chemische, d. h. solche Vorgänge, bei denen Faktoren wie Löslichkeit, Niederschlagsbildung, Oberflächenspannungen, sowie die mit den letzteren eng zusammenhängenden kolloiden Zustandseigenschaften der wichtigsten in Frage kommenden Stoffe, alle die Faktoren, welche in der Struktur des Plasmas und der Zelle zum Vorschein treten, voll zu berücksichtigen sind. Bei aller Überzeugung von der großen Wichtigkeit rein chemischer Untersuchungen von biologischen Vorgängen, welche von der Struktur, der Morphologie der untersuchten Systeme abstrahieren, glaube ich doch nicht, daß das Ziel der experimentellen Biologie, einer zum größten Teil angewandten Wissenschaft, hierin aufgeht. Im Gegenteil besteht angesichts der ungeheuren morphologischen Mannigfaltigkeit der biologischen Erscheinungen das wichtigere, weil viel umfassendere, kompliziertere und spezifischere Problem darin, die Beziehungen zwischen diesen rein chemischen Vorgängen und der komplizierten Struktur des Organismischen oder die Gesetzmäßigkeiten ihrer

Bildung usw. aufzusuchen. Die einzige Wissenschaft, welche bisher Fingerzeige zur Lösung dieses Problems gegeben hat, ist ein Zweig der physikalischen Chemie, die Kolloid- oder Capillarchemie, und man kann meiner Überzeugung nach kaum zuviel Hoffnung in bezug auf die Anwendbarkeit gerade dieser im Entstehen begriffenen Wissenschaft für die Probleme einer kausalen Morphologie, wie die Frage nach der Dynamik der Entwicklungserregung deren eins ist, haben. Aus diesen Gründen aber ist nie eine „rein chemische", sondern nur allgemein eine „physikalisch-chemische" Theorie der Entwicklungserregung, wie die Kolloidtheorie, die von Fischer und mir versucht wurde, eine solche mögliche darstellt, der Wirklichkeit angemessen.

3. Es ist nun unsere Aufgabe, zu versuchen, die Konsequenzen aus den oben geschilderten Versuchen für eine physikalisch-chemische Theorie der Entwicklungserregung zu ziehen. Was zunächst die Vorgänge der natürlichen Entwicklungserregung oder der Befruchtung anbetrifft, so folgt aus den Versuchen mit aller Bestimmtheit, daß das Spermatozoon neben anderen Bedingungen eine im Verhältnis zu seiner Größe ganz beträchtlich konzentriertere Lösung beider Oxydasen in das Ei hineinbringt. Es ist selbstverständlich, daß hiermit die chemischen Verschiedenheiten beider Geschlechtszellen nicht erschöpft sind; indessen weiß man bekanntlich einstweilen über diese anderen Unterschiede sehr wenig Von den möglichen Faktoren, welche in der zitierten Arbeit von Fischer und mir als gelbildende Mittel bei der natürlichen Entwicklungserregung angeführt wurden, läßt sich nun mit einiger Begründung ein besonderer Nachdruck auf die Möglichkeit legen, daß die Astrosphärenbildung, welche zur Zellteilung usw. führt, das Resultat von Fermenten ist, die als Reaktionsprodukt die unlöslichere Substanz der Astrosphären und Kerne liefern. Derartige Fermente, welche als das Resultat selbstverständlich ihrer chemischen Wirkungen Niederschläge hervorrufen, d. h. koagulierend wirken, existieren bekanntlich in großer Menge, und es ist in diesem Zusammenhange besonders interessant, daß bei den fermentativen Synthesen von Eiweißkörpern, welche bisher mit einiger Sicherheit beobachtet worden sind (A. E. Taylor[1]) und T. B. Robertson[2])), die synthetischen Produkte in Form eines

[1]) A. E. Taylor, Journ. of Biol. Chem. 3, 87ff., 1907.

[2]) T. B. Robertson, Journ. of. Biol. Chem. 3, 95ff., 1907.

Niederschlages erhalten wurden. Diese Entfernung der synthetischen Produkte aus dem Reaktionsgemisch durch Bildung unlöslicher und darum weniger reaktionsfähiger Niederschläge ist wahrscheinlich für die reaktionskinetischen Bedingungen solcher Synthese von hervorragender Wichtigkeit. Auf derartige im allgemeinen Sinne koagulierend wirkende Fermente ist bei der Aufzählung der möglichen gelbildenden Faktoren bei der Befruchtung auch von Fischer und mir hingewiesen worden. Nehmen wir nun an, daß es gerade diese oxydativen Fermente sind, welche zur Bildung der Niederschläge, die in den Astrosphären und allgemein der vermehrten Nucleinsubstanzen des sich teilenden Eies zum Vorschein kommen, führen, so begegnen wir hiermit den Anschauungen J. Loebs über die chemischen Vorgänge bei der Entwicklungserregung, und ich möchte in der Tat keine Gelegenheit vorbeilassen, welche eine Vereinigung der experimentell so vielseitig begründeten Theorien dieses Forschers mit der von Fischer und mir aufgestellten, hier weiter auszuführenden Koagulationstheorie der Entwicklungserregung ermöglicht. J. Loeb hat in letzter Zeit seine Vorstellungen von der oxydativen Natur der Entwicklungserregung u. a. dahin definiert, daß eins der Hauptresultate der natürlichen und künstlichen Methoden in der Synthese von Nucleinkörpern aus den Bestandteilen des Protoplasmas besteht[1]). Nehmen wir nun an, daß diese Nucleinsynthese, deren oxydative Natur Loeb auf sehr verschiedene Weise wahrscheinlich zu machen gesucht hat, in der quantitativen Verschiedenheit der Geschlechtszellen in bezug auf oxydative Fermente, resp. in der Einführung einer konzentrierten Oxydasenlösung in das Ei ihre Ursache hat, so stehen beide Theorien in diesem speziellen Fall auf gleichem Boden, insofern als eben diese Nucleinsynthese in der Bildung der für die Entwicklungserregung charakteristischen Niederschläge oder Koagulationsstrukturen, den Astrosphären, zum Vorschein kommt.

Es fragt sich nun, welches die Beweisgründe dafür sind, daß die durch den Eintritt des Spermatozoons vermehrten Oxydasen des Eies die Nucleinsynthese oder die Astrosphärenbildung veranlassen, resp. dafür, daß die Nucleinsynthese fermentativer Natur

[1]) Siehe insbesondere J. Loeb, diese Zeitschr. 1, 199 ff., 1906; 2, 34 ff., 1906 usw.

ist. Von J. Loeb ist nun darauf hingewiesen worden[1]), daß die Geschwindigkeit der Nucleinbildung während der Teilung des Eies stetig wachsen muß, und zwar muß die Zahl der Kerne nach Potenzen von 2 zunehmen[2]). Diese Formulierung hat die Voraussetzung, daß erstens die neugebildeten Kerne gleichgroß sind resp. werden wie die Mutterkerne, was nach Boveri zutrifft, sowie zweitens, daß die Intervalle zwischen den Kernteilungen gleichgroß sind. Diese zweite Voraussetzung ist nun noch keineswegs experimentell geprüft, und obschon sie wahrscheinlich mit großer Annäherung für die ersten Teilungsstadien gelten wird, glaube ich nicht, daß sie streng und besonders für die späteren Teilungen Geltung haben wird. Schon aus allgemeinen Gründen der Stetigkeit läßt sich mit gewisser Wahrscheinlichkeit folgern, daß, da die Kern- und Zellteilung bei einer gewissen Größe des Embryos, bei welcher die morphologischen Veränderungen höherer Ordnung (Blastulation, Gastrulation usw.) eintreten, zum Stillstand kommen oder doch eine gewisse Beschränkung erleiden, die Teilungsintervalle für diese Stadien abnehmen werden. Sollten sich jedoch auch die Intervalle als gleichgroß herausstellen, so würde doch sicherlich die Geschwindigkeit der Nucleinsynthese, d. h. die Anzahl der in der Zeiteinheit gebildeten Kerne bei den höheren Stadien abnehmen. Dies folgt nicht nur aus der Tatsache der Beschränkung der Zellteilung während der höheren morphologischen Differenzierung, sondern auch daraus, daß das Zunehmen der Kerne nach Potenzen von 2 eine maximale Zuwachsfunktion darstellt, die nur dann zutreffen würde, wenn alle Kerne gleichzeitig und alle Kerne stets während der ganzen Furchung sich teilen würden. Dies ist aber keineswegs der Fall, und insbesondere ist ja bekannt, daß bei vielen Tierformen die Blastomeren, aus denen die künftigen Geschlechtszellen hervorgehen, unter Umständen sehr frühzeitig differenziert werden, d. h. sich nicht oder nur sehr langsam während des eigentlichen Furchungsprozesses teilen. Auch sind die späteren Furchungsstadien ganz allgemein keineswegs immer aus einer Blasomerenzahl, welche eine Potenz von 2 ist, zusammengesetzt. Es geht hieraus mit anderen

[1]) J. Loeb, diese Zeitschr. 2, 37ff., 1906.

[2]) Diese Geschwindigkeitssteigerung der oxydativen Nucleinsynthese zeigte Loeb chemisch auch dadurch, daß er die zunehmende Färbbarkeit der Blastomeren mit Neutralrot nachwies.

Worten hervor, daß die Geschwindigkeit der Nucleinsynthese zwar während der Furchung allgemein immer zunehmen wird, daß aber die Zunahmen selbst nicht gleichmäßig wachsen, sondern namentlich während der späteren Stadien abnehmen werden.

Rechnerisch kann dieser Sachverhalt folgendermaßen geprüft werden. Bezeichnet n die Anzahl der gebildeten Kerne, t die Anzahl der Intervalle zwischen den Teilungen (wobei im idealen Falle also die Intervalle selbst gleich groß sind), so würde die maximale Vermehrungsfunktion der Kerne sein

$$n = 2^t.$$

t ergibt sich bei praktischer Messung als $\frac{T}{t_1}$, worin T die seit Beginn der ersten Kernteilung gemessene Zeit, t_1 das Intervall zwischen der Kernverschmelzung und der ersten Kernteilung, oder aber, falls man von einer genauer bestimmbaren Größe ausgehen will, das Intervall zwischen der ersten und zweiten Kernteilung darstellt. Sind die Intervalle zwischen den einzelnen Teilungen nun tatsächlich gleich, so muß t immer eine ganze Zahl ergeben.

Die einzigen diesbezüglichen Zahlen, die ich in der Literatur habe finden können[1]), lassen sich wegen ihrer großen Unbestimmtheit und ihrer geringen Anzahl in diesem Sinne nicht prüfen.

Ich bin im Begriff, an geeignetem Material, z. B. an Ascariseiern, diese Beziehung zu prüfen, und beabsichtige bald die betreffenden Resultate zu veröffentlichen.

Stellt man sich diese Vermehrungsgeschwindigkeit der Kerne nun graphisch dar, so würde man dem eben Gesagten entsprechend zunächst einen Kurvenast erhalten, der wegen der zunächst zunehmenden Vermehrungsgeschwindigkeit konkav zur Ordinatenachse gekrümmt ist. Bei höheren Stadien würde indessen die Krümmung nicht in gleicher Weise vor sich gehen, sondern wegen der eventuellen Vergrößerung der Teilungsintervalle, insbesondere aber wegen der Nichtbeteiligung einiger Zellen am allgemeinen Teilungsrhythmus und wegen des allmählichen Stillstandes der Zellteilung überhaupt schwächer werden. Die Kurve würde mit anderen Worten bei höheren Stadien eine Krümmung nach rechts erhalten und müßte, falls die Furchung vollkommen aufhört, resp. zur weiteren Zellteilung unendlich oder sehr viel Zeit verläuft, direkt horizontal nach rechts verlaufen. Wir müssen also eine S-Kurvengestalt für die Vermehrungsgeschwindigkeit der Kerne, resp. für die Geschwindigkeit der Nucleinsynthese an-

[1]) H. Driesch, Arch. f. Entwicklungsmechanik 7, 72.

nehmen. Diese S-Kurve ist aber typisch für eine Klasse katalytischer Vorgänge, an welche in diesem Zusammenhange zu denken besonders viel Gründe vorliegen, nämlich typisch für die Vorgänge der Autokatalyse, insbesondere für die häufigsten und jedenfalls bekanntesten Beispiele derselben, für die autoxydativen Vorgänge. Diese sich aus den gemachten Überlegungen mit Notwendigkeit ergebende Gestalt der Geschwindigkeitskurve der Nucleinsynthese ist meiner Ansicht nach ein ziemlich wichtiger Beweis für die katalytische oder fermentative Natur der Nucleinbildung und der dieser entsprechenden Astrosphärenbildung und Zellteilung. Weiterhin aber ermöglicht diese Auffassung eine nähere Definition der allgemeinen Anschauungen von J. Loeb betreffs der Rolle von Katalysatoren während der Entwicklung.

4. Versucht man sich über die nähere chemische Dynamik dieser autoxydativen Nucleinsynthese unter Mitwirkung der gefundenen zwei oxydativen Fermente klar zu werden, so ist es einstweilen besonders schwierig, die Rolle der Katalase, des peroxydzerstörenden Enzyms, näher zu definieren. Was das Vorhandensein von Peroxydasen, resp. vielleicht richtiger von organischen Peroxyden in beiden Geschlechtszellen, besonders aber im Spermatozoon anbetrifft, so würde allein schon das Vorhandensein dieser Stoffe berechtigen, die autoxydative Natur der Nucleinsynthese für wahrscheinlich zu halten. Denn bei den typischen Autoxydationen, denen des Terpentinöls, Leinöls usw., sind bekanntlich gerade derartige Peroxyde die Autokatalysatoren. Wie bekannt besteht aber auch bei der allgemeinen Theorie der fermentativen Gewebeatmung in bezug auf die Rolle der Katalase dieselbe Schwierigkeit. Bei den Autoxydationen des Leinöls usw. ist eine Substanz, welche die Stelle der Katalase vertreten würde, nicht gefunden worden[1]. Auf der anderen Seite läßt sich angesichts der ungeheuren und charakteristischen Verbreitung dieses Enzyms mit Recht annehmen, daß demselben eine wichtige Wirkung zukommt. Es ist hier nicht der Ort, eine allgemeine Theorie der fermentativen Oxydation unter Mitwirkung der genannten zwei Fermente zu versuchen; auch sind die experimen-

[1] Siehe Engler und Weißberg, Vorgänge der Autoxydation, Braunschweig 1904.

tellen Untersuchungen in dieser Hinsicht kaum so weit fortgeschritten, um einen solchen Versuch zu rechtfertigen. Nur auf folgende Punkte, welche in diesem Zusammenhang besonders wichtig erscheinen, sei kurz hingewiesen.

Bekanntlich ist von Pfeffer[1]) besonders betont worden, daß sich Peroxyde resp. allgemein „aktiver" Sauerstoff in lebenden Zellen nicht nachweisen läßt. Pfeffer verwirft daher jede Theorie der Gewebeatmung, welche auf der Mitwirkung von Peroxyden beruht. Indessen erwähnt Pfeffer in seinen umfangreichen, und was die gedankliche Verarbeitung des damals zu Gebote stehenden Tatsachenmaterials anbetrifft, erschöpfenden Untersuchungen eine Möglichkeit, nach welcher peroxydähnliche Stoffe auch mit Berücksichtigung ihrer Nichtnachweisbarkeit in lebenden Zellen sich an der Gewebeatmung beteiligen könnten, obschon er auch ihr skeptisch gegenübersteht. Diese Möglichkeit besteht darin, daß durch irgend welche Stoffwechselbedingungen verhindert wird, daß sich Peroxyde in nachweisbarer Menge in der lebenden Zelle bilden, resp. darin, daß diese Peroxyde unter normalen Lebensbedingungen sofort wieder zerstört werden. Diese Möglichkeit, welche also ein Gleichgewicht zwischen Bildung und Zerstörung peroxydähnlicher Stoffe als charakteristisch für die normale Gewebeatmung ansieht, hat meiner Ansicht nach viel für sich. So spricht die ziemlich beträchtliche Giftigkeit von Peroxyden an und für sich dafür, daß im normalen Verlaufe keine Peroxydspeicherung eintritt. Andererseits aber würde damit der Katalase eine sehr wichtige und plausible Rolle zuerteilt werden, insofern

---

[1]) Pfeffer, Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen, Abh. d. k. sächs. Ges. d. Wissensch. 1889. Es sei noch bemerkt, daß die meisten Arbeiten über oxydative „Fermente" erst nach der Publikation Pfeffers erschienen. Ferner arbeitete Pfeffer mit Wasserstoffsuperoxyd und insbesondere mit Cyanin als Indicator. Hierzu sei bemerkt, daß die neueren Untersuchungen Reaktionen von organischen Peroxyden bekannt gemacht haben, welche sich nicht bei Wasserstoffsuperoxyd erzielen lassen und umgekehrt. (Siehe die hierüber besonders ausführlich handelnden Ausführungen in Engler und Weißberg l. c., Autoxydation organischer Körper.) In diesem Sinne haben auch Bach und Chodat (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 2469) gefunden, daß Kartoffelpräparate bei Behandlung mit Jodkaliumlösung unter dem Mikroskop, sowie nachheriger Plasmolysierung der Zellen Jodausscheidung ergaben. Allerdings erhebt sich hierbei die Frage, wie weit die so behandelten Präparate noch als lebend anzusehen sind.

als dieselbe die Aufgabe hatte, eine solche Speicherung zu verhindern. Bekanntlich haben schon Bach und Chodat, sowie auch Senter der Katalase eine ähnliche Rolle zugeschrieben, obwohl ich in ihren Arbeiten ein Zurückgehen auf diese von Pfeffer angegebene Möglichkeit nicht finde. Allerdings ist von Senter aber darauf hingewiesen worden, daß die Rolle der Katalase möglicherweise darin bestehe, die unter der Mitwirkung von Peroxydasen entstehenden sauerstoffreichen Produkte zu zerstören, um dadurch dieselbe Reaktion, welche vielleicht wie so manche Fermentreaktionen durch Anhäufung der Reaktionsprodukte verlangsamt oder zum Stillstand gebracht wird, zu beschleunigen oder wieder zu ermöglichen. Diese Wirkung der Katalase hätte eine ansprechende Analogie mit der Niederschlagsbildung bei der fermentativen künstlichen Eiweißsynthese, bei welcher die Reaktion vielleicht auch dadurch, daß das Produkt als unlöslich aus dem Reaktionsgemisch ausfällt, wesentlich erleichtert oder vielleicht erst ermöglicht wird.

Daß aber andererseits die Katalase imstande ist, nicht nur Wasserstoffperoxyd, sondern auch andere Verbindungen mit locker gebundenem Sauerstoff zu zerstören, geht aus der Arbeit von Walter Ewald[1]) über die Reduktion des Oxyhämoglobins in Gegenwart der Katalase hervor. Auch in den schönen Untersuchungen von Ussher und Priestley[2]) über die Dynamik der pflanzlichen Assimilation wird der Katalase eine ganz entsprechende Rolle zugeschrieben.

5. Gehen wir nun von der Anschauung aus, daß auch für die Lebenserscheinungen des Eies ein derartiges Gleichgewicht zwischen beiden Fermenten besteht, so folgt zunächst, daß dasselbe nicht während der ganzen Lebensdauer des Eies bestehen oder konstant bleibt. Was zunächst das unreife Ei anbelangt, so kann dasselbe bekanntlich weder natürlich noch nach den Untersuchungen von J. Loeb auch durch irgend eine der künstlichen Methoden zur Entwicklungserregung gebracht werden. Wohl aber ist es J. Loeb gelungen, die unreifen Eier von Lottia künstlich reifen zu lassen, und dann auf verschiedenen Wegen ihre Entwicklung zu veranlassen. Interessant ist es in diesem Zusammenhange, daß sich gerade OH-Ionen in geeigneter Kon-

[1]) W. Ewald, Arch. f. d. ges. Physiol. **116**, 334ff., 1907.

[2]) Ussher und Priestley, Proc. Roy. Soc. **77**, B., 369ff., 1906.

zentration als das wirksame Reifungsmittel erwiesen, insofern als wir aus den Untersuchungen von Senter wissen, daß auch die Blutkatalase durch geringe Alkalikonzentrationen aktiviert wird. Für die Guajacperoxydase des Mehlwurms habe ich (nach noch unveröffentlichten Versuchen) gefunden, daß sie bei Alkalizusatz ein solches Optimum nicht, oder nur sehr wenig ausgeprägt erkennen läßt. Es scheint also, als wenn diese Reifung durch OH-Ionen wenigstens teilweise darin besteht, daß die oxydativen Fermente im Ei aktiviert oder vermehrt werden. Daß den OH-Ionen auch eine Wirkung auf die Beschaffenheit der Eimembran, speziell auf ihre Durchlässigkeit für das Spermatozoon zukommen kann, stelle ich selbstverständlich nicht in Abrede.

Das reife Ei geht bekanntlich zugrunde, falls es nicht befruchtet wird oder künstlich zur Entwicklung gelangt. J. Loeb hat nun die schöne Entdeckung gemacht, daß das unbefruchtete Ei viel länger am Leben bleibt, wenn man ihm den Sauerstoff entzieht, resp. CN in irgend einer Form zusetzt. Es ist nun wichtig zu betonen, daß die Wirkung der Katalase, wie von Senter für die Hämase, von mir für die Katalase der Tritonhodenextrakte festgestellt wurde, schon durch Spuren von HCN sehr stark gehemmt wird, im Gegensatz zur Peroxydase, welche anscheinend nur wenig beeinflußt wird. Es scheint demnach, als wenn die lebenserhaltende Wirkung des Sauerstoffmangels zum Teil darin beruht, durch Lähmen insbesondere der Katalase die fermentative Oxydation zum Stillstand bringt oder das Gleichgewicht beider Oxydasen verschiebt. Sollte es sich endgültig herausstellen, daß die Tätigkeit der Peroxydase nicht durch CN beeinflußt wird, so sollte man durch die Behandlung des Eies mit HCN eine Peroxydanreicherung erwarten, welche schließlich auch zum Tode des Eies führen würde. Diesem würde entsprechen, daß die Eier nur mit geringen Mengen von HCN und nur beschränkte Zeit behandelt werden dürfen, ohne zu leiden. Bei entsprechender schonender Behandlung sind indessen die Eier nach Auswaschen des HCN wieder zur Entwicklung fähig, und auch diesem entspricht die von Senter gefundene Tatsache, daß auch mit HCN vergiftete Hämaselösungen nach Durchleiten von Luft usw. sich wieder fast vollständig erholen.

Ferner aber ergibt sich aus der Anschauung, daß die gefundenen oxydativen Fermente für die Autoxydation des Ei-

plasmas, welche in der Astrosphärenbildung und Nucleinsynthese zum Vorschein kommt, verantwortlich sind, daß zur Einleitung dieser Autokatalyse ein bestimmtes Verhältnis der Oxydasenmenge zur Plasmamenge nötig ist. Abgesehen also von einem Gleichgewicht zwischen beiderlei oxydativen Fermenten müssen beide Fermente eine gewisse Konzentration im Ei besitzen, um die autokatalytische Entstehung der in den Astrosphären sichtbar werdenden unlöslichen Plasmaprodukte einzuleiten oder doch wenigstens derselben die nötige Geschwindigkeit zu erteilen. Es mag in diesem Zusammenhange an die verschiedentlich (auch von Loeb) ausgesprochene Ansicht erinnert werden, nach der alle Eier eine gewisse Tendenz zur parthenogenetischen Entwicklung besitzen, daß dieselbe aber darum nicht zum Ausdruck kommt, weil die zur Entwicklung führenden Prozesse in ihnen zu langsam verlaufen. Auf der anderen Seite ist es bekannt, das die Reaktionsgeschwindigkeit mit zunehmendem Katalysatorgehalt zunimmt, wobei oft die Geschwindigkeit dem Gehalt in erster Annäherung proportional ist. Für den speziellen Fall der Autokatalyse folgt aber theoretisch aus der zunehmenden Streckung und dem gleichzeitigen Steilerwerden der Geschwindigkeitskurven[1]) bei zunehmendem Anfangsgehalt des Autokatalysators, daß diese Proportionalität zwischen Katalysatormenge und Geschwindigkeit nicht besteht, sondern daß vielmehr die Geschwindigkeit (wenigstens der Anfangsgeschwindigkeit) schneller wächst als die Katalysatorkonzentration. Hier ist auch der Ort, auf die im experimentellen Teil geschilderten Versuche mit Gemischen von Sperma- und Eiextrakten zurückzukommen, Versuche, die zunächst mit Sicherheit ergaben, daß Mischungen allgemein von viel Eiextrakt und weniger Spermaextrakt eine stärkere Guajacreaktion als die konzentriertere beider Einzellösungen, nämlich der Spermaextrakt, zeigte. Sollte es sich herausstellen, daß auch die Vermehrung der Katalase, welche in dem einen oben beschriebenen Versuch bei längerem Stehenlassen von zusammengegossenem Ei- und Spermaextrakt beobachtet wurde, eine allgemeine Erscheinung ist, so wäre dies ein experimenteller vorzüglicher Beweis für die autokatalytische Natur der zur Nuclein-

---

[1]) Siehe z. B. A. Genthe, Beiträge zur Kenntnis des Leinöltrockenprozesses, Sep. aus Zeitschr. f. angew. Chem. 1906, 23 d. S.

synthese und zur Astrosphärenbildung führenden oxydativen Vorgänge.

Bei der natürlichen Entwicklungserregung durch das Spermatozoon wird die zur erfolgreichen Geschwindigkeitssteigerung der Autokatalyse nötige Oxydasenkonzentration durch das Spermatozoon mit seinem relativ größeren Oxydasengehalt in das Ei hineingebracht. In ganz entsprechender Weise findet aber dieser Auffassung gemäß auch eine zur Autokatalyse oder Entwicklungserregung nötige Oxydasenkonzentrierung bei der rein osmotischen Entwicklungserregung statt. Ganz in dem von Fischer und mir schon in der zitierten Abhandlung vertretenen Sinne würde die Entwicklungserregung durch Wasserentziehung, z. B. also durch isotonische Harnstoff-, Rohrzucker-, Salzlösungen, wie sie J. Loeb früher mit Erfolg angewendet hat[1]), ebenfalls wie die natürliche Befruchtung, eine Konzentrationserhöhung dieser oxydativen Fermente zur Folge haben, namentlich auch darum, weil diese als kolloide Stoffe im allgemeinen nur sehr lang-

---

[1]) Bekanntlich verwirft J. Loeb in neuerer Zeit angesichts der vielfachen Verbesserungen, die von ihm gefunden wurden, die älteste „nur osmotische" Methode, meiner Ansicht nach aber mit Unrecht. Denn abgesehen davon, daß diese Methode in der Tat eine vollständige morphologische Entwicklung vieler Eier hervorruft (siehe Loebs frühere Publikationen), wenn auch nur bei ihr ein geringerer Prozentsatz der Eier als bei Loebs neueren Methoden die späteren Stadien erreicht, ist sie für die Analyse der Erscheinungen einstweilen vielleicht viel wertvoller als die komplizierteren Prozeduren und Rezepte. Und zwar ist sie das darum, weil die Tatsache, daß sie wenigstens zu einem gewissen Prozentsatz erfolgreich ist, genügt zu zeigen, daß durch ihre Anwendung alle die zur Entwicklungserregung nötigen Bedingungen geschaffen werden, und die Analyse ihrer Wirkungen daher nur (oder hauptsächlich nur) mit dem einen äußeren Faktor der Wasserentziehung zu rechnen hat, im Gegensatz zu der Analyse der komplizierteren Methoden. Hieran wird nichts geändert, wenn, wie J. Loeb gezeigt hat, die Wirkung des Sauerstoffs während der osmotischen Behandlung nötig ist. Denn falls wir annehmen, daß die Autoxydation der Eiplasmas nur bei bestimmter Konzentration der oxydativen Fermente in merklicher Geschwindigkeit vor sich geht, so ist es selbstverständlich, daß zur Ermöglichung der ersten Reaktion, der Peroxydbildung, atmosphärischer Sauerstoff gegenwärtig sein muß. — Natürlich soll damit der „angewandte" oder praktische Vorteil der kombinierten neueren Loebschen Methoden in bezug auf die bis ins einzelne gehende „Nachahmung" der natürlichen Befruchtungserscheinungen keineswegs in Abrede gestellt werden.

sam, jedenfalls langsamer als die gleichfalls im Inneren der Eizelle gelösten Elektrolyte heraus diffundieren können. Die überraschende Gleichartigkeit der Erfolge der natürlichen und künstlichen Methoden der Entwicklungserregung ließ von vornherein erwarten, daß in letzter Linie der Hauptvorgang, welcher zur Entwicklung führt, trotz aller Variation der einzelnen ihn auslösenden Mittel, bei allen erfolgreichen Methoden derselbe ist. Insofern als bei der natürlichen Befruchtung die Konzentrationserhöhung der oxydativen Fermente durch Eindringen des Spermatozoons, bei der osmotischen Entwicklungserregung aber durch Wasserentziehung (Entfernung des „negativen Katalysators" J. Loeb) stattfindet, erhält auch umgekehrt die Annahme, daß in der Tat die Konzentrationserhöhung der oxydativen Fermente die Ursache für die Astrosphärenbildung resp. Nucleinsynthese ist, weitere Unterstützung.

Indessen beruhen ja nicht alle Methoden der künstlichen Entwicklungserregung auf Wasserentziehung, vielmehr haben Fischer und ich eine ganze Anzahl ven Mitteln, welche eine, wenn auch zuweilen nicht bis zu schwimmenden Larven führende Entwicklung veranlassen, aus der Literatur zusammengestellt. Ich habe nicht die Absicht, diese Mittel einzeln in bezug auf ihre Wirkung auf die Nucleinsynthese, Astrosphärenbildung und Zellteilung an dieser Stelle wiederum zu diskutieren. Nur folgende übersichtliche Bemerkungen seien in der Absicht gemacht, die Wirkung dieser Mittel im Zusammenhang mit der Anschauung, daß die Entwicklungserregung durch die Tätigkeit der im Ei bereits, wenn auch noch in ungenügender Konzentration vorhandenen Oxydationsfermente zustande kommt, zu charakterisieren.

Eine Gruppe dieser entwicklungserregenden Mittel sind Ionen, H- und OH-Ion, ferner spezifische Salzionen. Diese Mittel sind bei manchen Eiern allein, bei anderen wieder nur in Kombination mit der osmotischen Methode wirksam. Was nun den Einfluß des H-Ions anbetrifft, so ist mehrfach (Senter, Issajew, Wo. Ostwald) gefunden worden, daß dasselbe die Wirkung der Katalase, und zwar schon in sehr geringer Konzentration außerordentlich stark lähmt. Im Gegensatz hierzu habe ich gefunden, daß die Guajacperoxydase des Mehlwurms bei nicht zu großer H-Ionenkonzentration (z. B. bei sehr deutlicher Säurereaktion auf Lackmus) noch zweifellos auf Guajacsuspension unter Bläuung einwirkt. Es

würde demnach den Anschein haben, als wenn Eier, welche durch H-Ion zur Entwicklung gebracht werden können, eine im Verhältnis zur Katalase zu geringe Peroxydasenmenge enthielten. Durch Lähmung der Katalase und Fortschreiten der Peroxydbildung würde sodann das zur Entwicklung nötige Oxydasengleichgewicht hergestellt werden, und durch gleichzeitige osmotische Behandung die bereits vorhandene, aber zu langsam verlaufende Autoxydation des Eiplasmas durch Konzentrierung beider Fermente beschleunigt werden. Bei den Eiern, welche umgekehrt durch OH-Ionen mit oder ohne osmotische Behandlung entwickelt werden können, wäre ein umgekehrtes Ungleichgewicht zu erwarten, insofern als die Katalase nach den Untersuchungen von Senter und Issajew bei gewissen Alkalikonzentrationen ein Optimum hat, während die Guajacperoxydase (nach noch unveröffentlichten Versuchen mit der Mehlwurmperoxydase) ein solches nicht, oder nur in äußerst geringem Maße besitzt. Bei höheren OH-Konzentrationen wird jedoch auch die Katalase gelähmt, und diesem Umstande ist es vielleicht zuzuschreiben, wenn J. Loeb neuerdings für Seeigeleier zu dem Schluß kommt[1]), daß Säuren und Basen auf dasselbe Ei in gleicher Weise wirken, nur mit dem Unterschied, daß Basen zu gleicher Wirkung eine längere Zeit brauchen.

Als wesentlich möchte ich hier betonen, daß der Katalase, wie Senter gefunden hat, durch Neutralisierung der H- und OH-Ionen ihre frühere Wirksamkeit sehr weitgehend wieder zurückgegeben werden kann. Auch die mit Säure oder Alkali behandelten Eier müssen, um die besten Erfolge zu erzielen, wieder in neutrales Wasser resp. solches von geringerer H- oder OH-Konzentration zurückgebracht werden. Man wird nicht fehlgehen, wenn man die von Loeb gefundene Tatsache, daß die Entwicklungserregung, insbesondere was ihre Geschwindigkeit anbetrifft, von dem Gehalt des Wassers an H- und OH-Ionen abhängt, auf den Einfluß dieser Ionen sowohl auf die Geschwindigkeit der zweierlei oxydativen Prozesse als auch auf die Autokatalyse selbst zurückführt.

Was den Einfluß von spezifischen Ionen wie K, Ca usw. anbelangt, so liegen nicht genügende Untersuchungen über den Ein-

---

[1]) J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 572ff., 1907.

fluß derselben auf die zwei Oxydationsfermente vor, um ihre entwicklungserregende Wirkung näher analysieren zu können.

Ich möchte nicht die Möglichkeit unerwähnt lassen, daß H- und OH-Ionen sowie spezifische Salzionen auch physikalisch-chemisch die die Nucleinsynthese begleitende Koagulation auch in der Weise beschleunigen können, daß sie z. B. in sehr großer Verdünnung stärker auf die Zustandseigenschaften der im Eiplasma vielleicht schon zum Teil vorhandenen, kolloid gelösten Nucleinsubstanzen einwirken, als auf die Aktivität der oxydativen Fermente. Berücksichtigt man ferner den Umstand, daß auch die Fermenttätigkeit eng an die Zustandseigenschaften kolloider Substrate geknüpft ist (so entspricht z. B. der Einfluß von Säuren, Basen und Salzen auf die Pepto- bezüglich Tryptolyse von Eiweißstoffen allgemein dem Einfluß derselben Stoffe auf die Quellungs- oder Wasserbindefähigkeit der Substrate; siehe *Zeitschr. f. Chem. u. Industrie der Kolloide* 2, 59 u. 91, 1907), so ergibt sich, daß dieser direkte Einfluß auf die Astrosphärenbildung oder Nucleinkoagulation keineswegs zu vernachlässigen ist.

Von weiteren Mitteln, welche bei manchen Eiern eine Entwicklung veranlassen können, sind weiterhin zu nennen die Lipoid-Lösungsmittel, wie Äther, Chloroform, Benzol, Toluol und ev. Alkohol. Ferner wurde eine wenn auch nicht weitgehende Entwicklung veranlaßt durch Temperaturerhöhung, Temperaturerniedrigung, mechanische Behandlung durch Schütteln, Spritzen mit der Pipette usw. Ich halte es für wahrscheinlicher, daß diese Mittel direkt auf die Abscheidung der unlöslichen autoxydativ gebildeten Plasmaprodukte resp. die Astrosphärenbildung wirken, d. h. dieselbe erleichtern und beschleunigen, als daß dieselben indirekt wie die Wasserentziehung und zum größeren Teile das H- und OH-Ion durch Beeinflussung der Oxydasen die Entwicklung veranlassen, wie dies bereits von Fischer und mir früher angenommen wurde.

Endlich möchte ich noch kurz die von J. Loeb in allerletzter Zeit gefundene bemerkenswerte Tatsache erwähnen, daß Seeigeleier durch die Leibeshöhlenflüssigkeit resp. durch das Serum eines Gephyreen befruchtet werden können[1]). Besonders interessant ist, daß bereits sehr geringe Mengen des Serums hierzu ge-

---

[1]) J. Loeb, University of California Publications, Physiol. 3, 1907.

nügen, sowie, daß die Fähigkeit der Entwicklungserregung dem Serum durch Erhitzen genommen werden kann. Loeb äußert sich nicht bestimmt in bezug auf den wirksamen Bestandteil der Flüssigkeit. Ich möchte indessen in diesem Zusammenhang bemerken, daß die Fähigkeit, in großer Verdünnung zu wirken, sowie die Zerstörbarkeit durch Hitze die Annahme eines Fermentes besonders naheliegend erscheinen läßt. Erwägt man fernerhin, daß das zu respiratorischen Zwecken dienende Serum des Wurmes mit großer Sicherheit entsprechend dem Blut der höheren Tiere besonders reich an oxydativen Fermenten sein wird, so gewinnt die Annahme noch weiterhin an Wahrscheinlichkeit, daß hier die oxydativen Fermente bei der Entwicklungserregung eine wichtige Rolle spielen. Daß unter Umständen auch Kolloide mit erstaunlicher Leichtigkeit durch tierische Membranen gelangen können, wird durch die Versuche von M. Gompel und V. Henri[1]) über die Resorption des kolloiden Silbers besonders deutlich demonstriert.

6. Im letzten Abschnitt ist nur in großen Umrissen die Theorie der die Entwicklung veranlassenden Bedingungen gegeben worden, wie sie im Anschluß an die früheren Überlegungen von Fischer und mir und unter Berücksichtigung der Loebschen Versuche sowie meiner eigenen oben beschriebenen, welche den Nachweis einerseits der Existenz, andererseits der charakteristischen quantitativen Unterschiede der Oxydasen in beiderlei Geschlechtszellen lieferte, am angemessensten erschien. Wie schon mehrfach erwähnt, hat sich J. Loeb sehr eingehend mit den Oxydationsverhätnissen bei der Entwicklungserregung in letzter Zeit beschäftigt, und es finden sich in seinen Arbeiten mehrfach Vermutungen über die nähere Dynamik dieser Oxydationsvorgänge. In diesem Sinne gebraucht Loeb auch mehrmals das Wort „Oxydase", ja in einer neueren Arbeit[2]) findet sich sogar „(Peroxyd?)". Indessen fehlt in allen diesen Fällen eine nähere Motivierung, in welcher Weise die diesbezüglichen Erscheinungen auf Eigenschaften oxydativer Fermente, sowie auf die Eigenschaften welcher Arten derselben usw. zurückzuführen sind. Außerdem ist es einigermaßen schwierig, die theoretischen Auslegungen,

[1]) M. Gompel und V. Henri, Compt. rend. des séanc. d. l. Soc. de Biol. 61, 488ff., 1906.

[2]) J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 30, 1907.

welche J. Loeb seinen zahlreichen Versuchen gegeben hat, zwecks zusammenfassender Betrachtung zu fixieren, da sich sehr verschiedene Theoreme über dieselben experimentell festgestellten Beziehungen in den verschiedenen Arbeiten finden. Obgleich die Ausgangspunkte für diese experimentelle wie theoretische Untersuchung, wie schon oben bemerkt, vollkommen unabhängig von den Loebschen Theoremen über den oxydativen Charakter der Entwicklungserregung sind, so möchte ich doch nicht unterlassen, zu betonen, daß die experimentellen Resultate sich vollständig an die von diesem Autor gefundenen Tatsachen anschließen resp. sie ergänzen. Nur in theoretischer Hinsicht bin ich nach wie vor anderer Ansicht als dieser geniale Forscher, insofern als ich einerseits den von ihm gegen die Koagulationstheorie erhobenen Widerspruch als irrig ansehen muß, da eine „rein physikalische“ Wirkung der entwicklungserregenden Mittel von uns nirgends behauptet worden ist, und andererseits darum, weil aus den oben dargelegten Gründen niemals eine „chemische“ oder „rein chemische“ Theorie, wie sie J. Loeb im Gegensatz zu der „Koagulationstheorie“ aufgestellt hat, sondern nur eine „physikalisch-chemische“, wie eine solche in der Koagulationstheorie versucht worden ist, den Erscheinungen der Entwicklungserregung angemessen sein kann. Auch eine Gegenüberstellung der „Koagulationstheorie“ und der „chemischen“ Theorie als Betrachtungen derselben Erscheinungen von zwei verschiedenen Seiten aus ist meiner Ansicht nach nicht gerechtfertigt, da eine chemische Theorie in der von Loeb vorgeschlagenen Form nie der Struktur und Morphologie der Entwicklungserscheinungen gerecht werden kann, es sei denn, daß sie physikalisch-chemische Faktoren einführt. Mit letzterem Verfahren würde sie aber auf dem Boden der Koagulationstheorie stehen, welche eine Mehrheit der chemischen und physikalischen Mittel zur Erreichung desselben Zweckes, der Synthese unlöslicher oder doch strukturell vom Eiplasma abweichender Nucleinsubstanzen, d. h. zunächst der Astrosphären, annimmt.

Zusammenfassung.

1. Es wird auf die allgemeine Verbreitung zweier oxydativer Fermente, der Guajacperoxydase sowie der Katalase, hingewiesen. Ferner werden die allgemeinen physikalisch-chemischen Eigen-

schaften dieser Fermente zum Teil an der Hand neuer Versuche erörtert. Die Bestimmungsmethodik dieser zwei Fermente wird besprochen und ein neues Verfahren zur Bestimmung der Guajacperoxydase in rein wässerigem Medium angegeben.

2. Die Herstellung von Geschlechtszellenextrakten gleicher Konzentration, sowie insbesondere die dabei vorhandenen Fehlerquellen werden erörtert. Es werden Gehaltsbestimmungsmethoden für beide Fermente gewählt; die Guajacperoxydase wird qualitativ nach der Färbung, die Katalase reaktionskinetisch durch die Geschwindigkeitskonstante bestimmt. Es ergibt sich, daß die Katalase der Geschlechtszellenextrakte Wasserstoffperoxyd nur in den ersten Reaktionsstadien nach der monomolekularen Reaktionsordnung zersetzt, daß aber später die Konstanten stark abfallen. Bei Benutzung der Reaktionsformel zweiter Ordnung ergibt sich eine etwas bessere Übereinstimmung trotz eines Gangs der Konstanten. Der Grund für die Unregelmäßigkeit liegt voraussichtlich in der allmählichen Zerstörung des Enzyms. Es wird daher ein graphisches Verfahren angewendet, um den Wert der Geschwindigkeitskonstante bei der Zeit 0 zu extrapolieren.

3. Es werden gleichkonzentrierte Sperma- und Eiextrakte auf ihren Katalasengehalt untersucht. Bei Berücksichtigung der Fehlerquellen ergibt sich, daß die Spermaextrakte immer bedeutend mehr Katalase enthalten als die Eiextrakte, und zwar ist das Verhältnis der Gehalte von Sperma- zu Eiextrakt durchschnittlich wie 3 : 1, d. h. das Eiextrakt enthält ca. 66% weniger Katalase als der Spermaextrakt. Außerdem ergibt sich, daß dieser Unterschied beim Vergleich der Geschlechtszellen verschiedener Tiere derselben Species in erster Annäherung konstant ist. Weitere Einzelheiten der Versuchsergebnisse sowie das Verhalten älterer Extrakte werden besprochen.

4. Gleichkonzentrierte Sperma- und Eilösungen werden auf ihren Gehalt an Guajacperoxydase untersucht, mit dem Resultat, daß stets die Spermaextrakte mehr Peroxydase enthalten als die Eiextrakte. Es werden Einzelheiten der Versuche geschildert und diskutiert.

5. Es werden Mischungen von Sperma- und Eiextrakten in bezug auf ihren Gehalt an beiderlei Oxydasen untersucht. Bei Bestimmung der Katalase zeigte sich, daß die Abweichungen des beobachteten Gehalts von dem nach der Mischungsregel berech-

neten Katalasengehalt dann innerhalb der Fehlergrenzen lagen, wenn die Lösungen gleich nach dem Zusammengießen untersucht wurden. Bei dem einzigen Versuch indessen, bei dem das Gemisch vor der Katalasenbestimmung längere Zeit (4 Stunden) gestanden hatte, wurde eine starke Zunahme (23%) im Vergleich zu dem berechneten Gehalte gefunden, eine Zunahme, welche außerhalb der Fehlergrenzen liegt. — Bei der Bestimmung des Peroxydasengehaltes von Sperma- und Eiextraktmischungen ergab sich, daß bei einem Mischungsverhältnis von Spermaextrakt zu Eiextrakt von höchstens 3 : 2, in der Regel aber nur bei einem kleineren Verhältnis sich bald nach der Mischung ein Maximum der Färbung zeigte. Dieses Maximum war stärker gefärbt als die konzentrierteste Einzellösung, nämlich der reine Spermaextrakt. Es findet also durch Vermischen eine Zunahme oder Aktivierung der Peroxydase dann statt, wenn gleichviel oder aber weniger Spermaextrakt zu einem bestimmten Volum Eiextrakt gegeben wird. Einzelheiten der Versuche werden beschrieben und diskutiert.

6. Es wird eine längere theoretische Auseinandersetzung über die Rolle dieser Fermente bei den Vorgängen der Entwicklungserregung gegeben, wobei die früher aufgestellte „Koagulationstheorie“ von Fischer und dem Verfasser, sowie die „chemische“ Befruchtungstheorie von J. Loeb diskutiert werden. In Kürze ergibt sich, daß die durch die verschiedenartigen Methoden hervorgebrachte Entwicklungserregung in einer auf verschiedenen Wegen hervorgerufenen Konzentrierung resp. Aktivierung der genannten zwei oxydativen Fermente ist, ein Vorgang, welcher, wie sich aus mehreren Erwägungen ergibt, eine Autoxydation von gewisser Geschwindigkeit einleitet. Diese Autoxydation führt zur chemischen Synthese von Nucleinsubstanzen, welche in Form von orientierten und lokalisierten Niederschlägen (Astrosphären) koagulieren. Diese Autoxydation sowie Niederschlagsbildung wird durch verschiedene chemische und physikalisch-chemische Faktoren beeinflußt. Die Folgerungen dieser Theorie werden an den insbesondere von J. Loeb gefundenen experimentellen Tatsachen diskutiert. Die Einzelheiten dieser Diskussion sowie die theoretischen Beweisführungen können nicht in Kürze zusammengefaßt werden.

Die Pepsinbestimmung mittels der Edestinprobe.

Von

E. Fuld und **Louis A. Levison** (Toledo, U. S. A.).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 28. September 1907.)

I.

Von all den verschiedenen Wirkungen, welche das Magensekret auszuüben imstande ist, kommt biologisch zweifellos das größte Interesse seiner Fähigkeit zu, Nahrungseiweiß zu verdauen. Diese Wirkung ist vor allem an zwei Bedingungen geknüpft. Sehen wir nämlich zunächst von der Existenz von Antikörpern ab, so muß erstens freie Salzsäure (resp. eine andere starke Säure) vorhanden sein, und zweitens ein weiterer dem Mageninhalt eigentümlicher Faktor, den man als chemische Substanz von unbekannter Konstitution auffaßt und als Pepsin bezeichnet.

Es ist durchaus natürlich, daß man der quantitativen Bestimmung dieses Pepsins unter normalen und pathologischen Bedingungen frühzeitig große Aufmerksamkeit geschenkt hat, da seine Messung uns über die spezifische Leistung der Magendrüsen zu orientieren verspricht, wenn auch nicht geleugnet werden soll, daß die Frage nach dieser sich erst bei erheblichem Darniederliegen der Salzsäuresekretion erheben kann.

Allein die Methodik der Pepsinbestimmung war lange Zeit hindurch eine wenig gut definierte, bis dann Mett (1) eine solche ausarbeitete, nach dessen genauen Vorschriften denn auch die peptische Kraft des Mageninhalts, soweit dies überhaupt geschieht, bestimmt zu werden pflegt. Aber auch die Methode Metts leistet nicht ganz dasjenige, was man von ihr erwartet hatte.

Ihre Ausführung ist bekanntlich die, daß Hühnereiweiß, in Capillaren koaguliert, der Wirkung des auf einen bestimmten Säuregrad gebrachten Mageninhalts, während einer bestimmten

Stundenzahl (in praxi meist 24) bei Brutschrankwärme ausgesetzt wird. Alsdann mißt man die Längen der verdauten Eiweißsäulen, welche der Quadratwurzel aus der vorhandenen Pepsinmenge proportional sein sollen.

Um nur einige der wichtigsten Einwände gegen dies Verfahren zusammenzustellen, sei zunächst hervorgehoben, daß es eine vielstündige Wartezeit erfordert. Außerdem ist die Voraussetzung, daß ein Ei dem andern gleiche, in chemischer Hinsicht keineswegs selbstverständlich, im Gegenteil haben Blum und der eine von uns (2) bereits hervorgehoben, daß die Verschiedenheit des Geschmacks der Eier in verschiedener Jahreszeit (Maikäfergeschmack!) mit aller Deutlichkeit anzeigt, daß die Zusammensetzung der Eier von der zufälligen Ernährungsweise der Hühner abhängt; welchen Einfluß aber bereits kleine Mengen fremder Substanzen auf fermentative Prozesse auszuüben vermögen, das bedarf keiner weitläufigen Auseinandersetzung. Weiterhin ist die Verdaulichkeit der Eiweißsäulen um so größer, je weicher sie sind. Nun ist ja allerdings Koagulationstemperatur und -dauer (3) exakt vorgeschrieben, da aber die Wandstärke der Glascapillaren sehr wechselt, so kommen in Wirklichkeit doch große Unterschiede vor.

Aber noch ein weit schwererer Mangel haftet der Mettschen Methode an, dessen Aufdeckung sie in ihrer ursprünglichen Gestalt geradezu als ungeeignet zur Pepsinbestimmung im ausgeheberten Mageninhalt erscheinen läßt. Die Länge der verdauten Eiweißsäulen nämlich gestattet keinerlei Rückschluß auf seine Fermentkonzentration, denn die Verdünnungen desselben wirken durchaus nicht entsprechend der Berechnung weniger stark, sondern die Abnahme erfolgt von Fall zu Fall ganz verschieden. Schiff und Nierenstein (4), welche diese Verhältnisse genau studierten, schlugen daher vor, ein für allemal nicht den unverdünnten Magensaft zu benutzen, sondern dessen 16fache Verdünnung. Abgesehen davon, daß nach Kaiserling (5) selbst von einer derartigen Verdünnung an abwärts noch nicht immer die sogenannte Schützsche Regel (6) gilt, werden durch ein solches Vorgehen die verdauten Eiweißsäulen auf ein sehr geringes Maß herabgesetzt und die relativen Messungsfehler sehr vergrößert. Überhaupt ist die Empfindlichkeit des Mettschen Verfahrens nicht sehr groß und oftmals direkt unzureichend.

Blum und Fuld (l. c.), welche die Gründe für die eigentümliche Verdauungshemmung im konzentrierten Magensaft einer Untersuchung unterzogen und auf eine eigene Substanz das Antipepsin zurückführten, kamen gleichzeitig zu dem Resultat, daß dessen Wirkung ermöglicht oder wenigstens verstärkt werde durch die geringe Oberfläche, welche das koagulierte Eiweiß und zumal das der Mettschen Eiweißzylinder der Verdauungsflüssigkeit darbietet[1]), und sie sprachen den Wunsch aus, daß diese Untersuchung an einer einheitlichen flüssigen Verdauungsmischung wiederholt werde.

Bei dieser Gelegenheit sei daran erinnert, daß die Genannten schon vorher empfohlen hatten (8), doch lieber das Labferment als das Pepsin zu bestimmen, da sie zeigen konnten, daß beide nicht nur, wie vor Jahren Grützner (9) hervorhob, unter normalen, sondern auch unter pathologischen Bedingungen durchaus parallel gingen — auf die Frage der Identität resp. des Riesenmoleküls kommt es hier nicht an —, wobei die von ihnen angewendete Labmethode weit schneller[2]) zum Resultat führte und weit empfindlicher war. Zu den oben angestellten Anforderungen kam für uns daher noch diejenige hinzu, daß das Verfahren nicht oder nur wenig an Schnelligkeit und Schärfe hinter der Labmethode zurückstehe.

Eine gewisse Grundlage fanden wir in der Hammerschlagschen (9) Pepsinbestimmung. Dieser Autor geht von dem käuflichen Albuminum ex ovis aus, bereitet daraus eine ein-

[1]) Aus diesem Grunde ist auch der Vorschlag Gläßners (7), statt des Eiereiweißes Serumeiweiß zu nehmen, das leichter verdaut wird, nicht geeignet, die Schiff-Nierensteinsche Methode empfehlenswert zu machen. Außerdem schwankt der Eiweißgehalt des Serums ebenfalls in weiten Grenzen.

[2]) Die Digestionsdauer wurde von Blum und Fuld zu zwei Stunden vorgeschrieben, in der Befürchtung, daß die Zeit, welche die Ansetzung der Proben beansprucht, sonst ins Gewicht fallen würde. Da aber bei geeignetem Vorgehen (vgl. S. 4 u. 5) diese sich sehr verkürzen läßt und nach den Untersuchungen Fulds (24) auch das menschliche Labferment seine Wirkung proportional der Zeit ausübt, so läßt sich die Versuchszeit z. B. auf eine halbe Stunde herabsetzen, wenn man hinterher die Umrechnung auf die einmal als Normalzeit angenommenen zwei Stunden ausführt; zugleich erübrigt es sich im Wasserbad zu arbeiten, wenn die Temperatur der Flüssigkeiten einigermaßen richtig ist, da dieselbe sich in einer halben Stunde nicht wesentlich ändert.

prozentige Lösung (auf vollkommene Löslichkeit des Präparates berechnet) mittels einer passend gewählten Salzsäure und setzt eine Probe mit 5 ccm Magensaft, sowie eine Kontrolle während einer Stunde der Brutwärme aus. In beiden Proben wird der Eiweißgehalt nach Eßbach ermittelt und aus der gefundenen Differenz der Pepsingehalt berechnet. Leider ist die Schärfe der Probe nicht sehr groß; das Albuminum ex ovis ist ein sehr schlechtes Präparat und die Eßbachsche Bestimmung keine gute Bestimmung. Zudem verscherzt man durch ihre lange Dauer den Vorteil, den man durch die Verkürzung der Digestion gewinnen könnte.

Ein interessantes, ebenfalls mit Eiweißlösungen arbeitendes Verfahren (denselben, wie Thomas und Weber (10) sie für ihr durch Trocknung und Wägung kompliziertes Verfahren angegeben hatten) hat Franz Volhard (8) ausgearbeitet. Dieser benutzt das Säurebindungsvermögen der Caseosen, um durch direkte Titration mit $^1/_{10}$ Lauge die Verdauungsleistung zu bestimmen, nachdem er vorher das unverdaute Casein durch Aussalzung und Abfiltrieren entfernt hat. Die Notwendigkeit letzterer Manipulationen, sowie diejenige des Arbeitens mit großen Flüssigkeitsmengen bilden die Schwächen seines Systems, die auch in der neuen Bearbeitung Löhleins (9) fortbestehen.

Wir gedachten nun anfangs, ähnlich wie Hammerschlag, in einer kleinen Flüssigkeitsmenge mittels einer einfachen Methode zu arbeiten, die dabei jedoch schnell zum Ziele führen und einwandsfrei sein sollte.

Tatsächlich schwebte uns dabei eine Titrationsmethode vor, wobei wir dachten, die Summe der Spaltungsprodukte werde ein merklich höheres Bindungsvermögen für Alkali besitzen, als das ursprüngliche Eiweiß. Diese nicht zum erwarteten Ergebnis führenden Titrationsversuche ließen uns Beobachtungen machen, die zur Ausarbeitung einer, wie wir glauben, befriedigenden Bestimmung führten und zugleich auch die Aussicht auf eine Titration anderer Art eröffneten.

Als ein Eiweißkörper von geeignetem Verhalten erwies sich das Edestin; dafür, daß er auf dessen Bitte dem einen von uns eine kleine Menge dieser Substanz überließ, sprechen wir Herrn Prof. Jacoby unsern besten Dank aus, einen gleichen auch den Höchster Farbwerken, die uns 25 g zur Verfügung stellten.

Wir haben hier noch einer Methode der Pepsinbestimmung zu gedenken, die von Jacoby vor einigen Jahren gefunden worden war und neuerdings von ihm auch für praktische Zwecke empfohlen wird (14, 15). Dieselbe beruht auf der Klärung einer trüben Ricinlösung durch Pepsinsalzsäure. Eine ganz ähnliche Methode wurde letzthin auch von Liebmann (16) beschrieben, der statt der an sich trüben Ricinlösung künstlich eine solche aus Eiereiweiß herstellt.

Beide Methoden, zumal erstere, entsprechen bei all ihrer Trefflichkeit nicht den oben zitierten Forderungen Blums und Fulds, und wir weisen noch einmal unter Hinweis auf diese Literaturstellen die Auffassung Jacobys zurück, als ob die unten mitzuteilenden Methoden (außer einer, von welcher wir dies angeben werden, und die hier zum erstenmal mitgeteilt wird) Modifikationen der seinigen (die er selbst als „Aufhellungsmethode" charakterisiert) darstellten oder auch nur durch deren Existenz beeinflußt seien.

II.

Wenn man eine einprozentige Lösung von Edestin in verdünnter Salzsäure herstellt, so entsteht eine stark opalescierende Flüssigkeit. Setzt man dieselbe der Wirkung von abgestuften Pepsinmengen aus und untersucht nachher ihr Säureverbindungsvermögen, so beobachtet man folgendes:

Bei den gewählten Quanten (5 ccm) ist gegenüber den Indicatoren für freie Salzsäure (Dimethylamidoazobenzol) der Alkaliverbrauch unverändert gleichgültig, ob viel oder kein Pepsin gewirkt hat.

Titriert man nun unter Verwendung von Phenolphthalein zu Ende, so beobachtet man einen bemerkenswerten Unterschied zwar nicht am Alkaliverbrauch, aber doch während der Titration.

Kurz bevor nämlich der Umschlag in Rot erfolgt, tritt ein Niederschlag auf, dessen Menge im umgekehrten Verhältnis zu der Intensität der eingeleiteten Pepsinwirkung steht; bei weiterem Zusatz von Alkali verschwindet der Niederschlag wieder mehr oder weniger vollkommen (siehe Versuch vom 22. Juni).

Diese Beobachtung wies nun unserem weiteren Vorgehen den Weg.

Natürlich wäre es möglich, durch Absitzenlassen oder Zentrifugieren die Mengen des Neutralisationspräcipitats festzustellen und aus ihr die Verdauungsleistung zu berechnen, etwa so wie Hammerschlag dies vorschrieb. Da nun aber diese Berechnung mit gewissen Voraussetzungen arbeiten müßte, deren Berechtigung noch der Kontroverse unterliegt (Hammerschlag verteidigt ein anderes Gesetz als das Schütz-Mettsche), so ist es geratener, ein dem Brückeschen Verfahren (17) analoges Vorgehen einzuschlagen.

Brücke nämlich ging von der fast völlig zutreffenden Überlegung aus, daß, wie auch immer das Pepsingesetz zu formulieren sein mochte, jedenfalls zwei Lösungen, die in der gleichen Zeit den gleichen deutlich konstatierbaren Effekt hervorriefen, gleichviel Ferment enthalten mußten. Er stellte darum zwei Reihen von Verdünnungen her, indem er das eine Mal ausging von einer Standardlösung und zum andern von der zu untersuchenden Lösung; indem er nun zusah, wievielmal die eine und wievielmal die andere Lösung verdünnt werden durfte, um innerhalb einer bestimmten Versuchszeit eine definierte Wirkung auszuüben, war er imstande auszusagen, wievielmal die eine stärker oder schwächer war als die andere.

Als Kriterium benutzte er den ersten sichtbaren Beginn oder auch die Vollendung der Verdauung einer Fibrinflocke oder einer Scheibe koagulierten Eiereiweißes. Es ist ohne weiteres klar, daß bei einem besser definierten Ausgangsmaterial, wie z. B. dem unsrigen, die eine Reihe, diejenige mit den Verdünnungen der Standardlösung ohne Schaden fortfallen kann; diese Bemerkung gilt nicht nur für das Pepsin, sondern ganz allgemein. Auch für das Labferment benutzte ursprünglich Hammarsten die Brückesche Methode; Morgenroth, der mit einer Dauermilch arbeitete, durfte bereits eine einfache Grenzmethode benutzen.

Bei unserer bisher beschriebenen Versuchsanordnung genügt es zum Beispiel, die Saftmenge zu bestimmen, welche nötig ist, um innerhalb der Versuchszeit keinen oder nur einen unerheblichen Niederschlag ausfallen zu lassen. Diese Anordnung besitzt Nachteile. Erstens trübt sich die Lösung beim Neutralisieren fast immer, so daß es mißlich ist, das Auftreten oder Ausbleiben geringer Niederschläge festzustellen, zweitens ist die Probe, wenigstens für Zimmertemperatur und kurze Versuchsdauer, von

denen wir nicht ohne Not abgehen wollten, nicht besonders fein. Dagegen konnten wir beobachten, daß allemal da, wo ein reichlicher Niederschlag ausfiel, die überstehende Flüssigkeit klar war. Das Auftreten der ersten Trübung in dieser bezeichnete eine gewisse Einschränkung der Niederschlagsbildung und damit eine bestimmte Leistung des Pepsins.

Immerhin schien es uns, als ob die Zeit, welche von der einigermaßen genauen Neutralisation einer Reihenprobe erfordert wird, einen praktischen, sowie einen theoretischen Mangel der Methode (mangelhafte Präzisierung der Versuchszeit!) bedinge.

Wir gingen daher dazu über, die Neutralisation durch Titration aufzugeben und dieselbe durch bloßes Überschichten zu erreichen, wobei wir uns einer starken Lösung von Ammoniak bedienten.

Durch Diffusion entsteht zwischen den beiden Flüssigkeiten eine neutrale Schicht und in dieser fällt etwa vorhandenes unverdautes Eiweiß als ringförmige Trübung aus (siehe Versuch vom 24. Juni).

Um die Probe noch empfindlicher zu gestalten, gingen wir dazu über, eine verdünntere Edestinlösung, nämlich 1 : 1000, zu nehmen, was zugleich den Vorteil hat, daß die oben erwähnte Opalescenz der Ausgangslösung nicht mehr zustande kommt.

In dieser Ausgestaltung wurde die Edestinprobe von dem einen von uns im Verein für innere Medizin demonstriert.

Auch die meisten der unten zu beschreibenden Versuche wurden mit dieser Methodik ausgeführt, die sich dabei durchaus bewährte.

Wir halten es daher für richtig, die näheren Anweisungen hier folgen zu lassen, wenn wir gegenwärtig auch das auf S. 6 beschriebene Verfahren vorziehen.

Zunächst wird eine Salzsäure von der Acidität 30, entsprechend der Menge freier Salzsäure, die man nach Probefrühstück in der Norm findet, hergestellt, indem man auf 97 ccm destillierten Wassers 3 ccm Normalsalzsäure zusetzt oder auf 70 ccm Wasser 30 ccm Zehntelsäure. Diese Standardsalzsäure dient zu allen Verdünnungen und Auflösungen.

Mittels derselben wird zunächst in üblicher Weise, nach vorherigem Anrühren zum Teig, die einpromillige Edestinlösung hergestellt.

Soll dieselbe längere Zeit aufbewahrt werden, was ohne Schaden geschehen kann, so ist es ratsam, sie aufzukochen. Eine nachweisbare Änderung ihrer Verdaulichkeit ist damit nicht verbunden.

Das Filtrat vom zu untersuchenden Probefrühstück wird aufs Zwanzigfache verdünnt und eine Reihe trockener Reagensröhrchen mittels einer in $^1/_{100}$ ccm geteilten 1 ccm-Pipette mit fallenden Mengen dieses Zwanzigstelsaftes beschickt. Es sei daran erinnert, daß es nicht rationell ist, diese Abstufung entsprechend den natürlichen Zahlen zu gestalten, sondern, wie der eine von uns dies neulich ausgeführt hat, nach Wurzeln aus zehn, wenigstens sind wir in dieser Weise vorgegangen und können eine nennenswerte Schwierigkeit darin nicht finden, wohl aber einen nicht unbeträchtlichen Vorteil.

Die Reagensgläser wählt man zweckmäßig eng, von einem Durchmesser zu ungefähr 1 cm. Dieser Kunstgriff, der auffallenderweise unbekannt zu sein scheint, erleichtert das Überschichten wesentlich, da in dem engen Rohr eine Mischung viel schwerer eintritt.

In die mit dem verdünnten Mageninhalt versehenen Gläser bringt man nun rasch arbeitend die gewählte Menge Edestinlösung, z. B. 2 ccm. Man kann sich zu diesem Behufe einer besonderen „Repetierspritze" bedienen oder einer in Kubikzentimeter geteilten 10 ccm-Pipette oder einer Harnpipette (einer kurzen Heberpipette, welche eine weite Ausflußöffnung besitzt). Jedenfalls dauert die Eintragung des Edestins nur etwa eine Minute, und wenn man in derselben Reihenfolge, die man beim Auffüllen einhielt, nachher auch überschichtet, so resultiert trotz der Kürze der Digestionszeit kein irgend in Betracht kommender Fehler. Nach Ablauf der 30 Minuten wird Ammoniak mittels einer mit Gummikappe versehenen Pipette in Tropfen, die man am Glas entlang fließen läßt, zugegeben. (Es ist durchaus nicht ratsam, Ammoniak direkt zu pipettieren; nimmt man aus Versehen eine kleinere als die gewohnte Pipette, so geschieht es allzu leicht, daß etwas von der Flüssigkeit in den Mund gelangt und die Schleimhaut verätzt. Taucht man die Pipette aus Versehen statt in die Flüssigkeit in den Luftraum der Flasche, so bekommt man den Mund voll Ammoniakdampf, was auch ungemein lästig ist. Wer nicht mit dem Gummiballon arbeiten

will, kann ja eins der unten zu beschreibenden Verfahren anwenden.)

Nachdem alle Proben überschichtet sind, am besten die pepsinreichsten zuerst, betrachtet man die Reihe in auffallendem Licht gegen einen schwarzen Hintergrund, z. B. einen Wachstuchumschlag. Man notiert nun die pepsinärmste Probe ohne Ring und berechnet daraus die Stärke des Saftes.

Diese Rechnung führt man so aus, daß man die Anzahl Kubikzentimeter Pepsinlösung resp. Magensaft, die die Probe enthält, dividiert durch das Produkt aus deren Verdünnung und der Anzahl Kubikzentimeter Edestinlösung, die er ausverdaut hat. Wenn also von der 20fachen Verdünnung des Mageninhalts 0,25 ccm eben hinreichen, um das Auftreten des Ringes in 2 ccm Edestinlösung zu verhindern, so ist die gesuchte Zahl $0{,}25 : 20 \cdot 2$ oder $1 : 160$ (eins zu hundertundsechzig). Man bezeichnet danach den Mageninhalt als ein Pepsin 1 : 160, wie dies bei den Labpräparaten auch üblich ist[1]), oder man sagt: der Saft ist 160fach. Man kann auch von einem Saft von 160 Pepsineinheiten sprechen, wie dies Solms tut, der nach der Jacobyschen Methode gearbeitet hat.

Indessen ist es nötig, dabei das Verfahren zu nennen, nach dem die Ziffern gewonnen sind. Denn auch nach Mettversuchen lassen sich Pepsineinheiten berechnen, was z. B. Wohlgemuth und Röder (18) getan haben, oder aus der Volhardschen Methode, wie dies Löhlein ausführt.

Indem wir uns nun die Beschreibung der Anwendungen der Methode, welche mit wenigen Ausnahmen in der beschriebenen Weise ausgeführt wurden, auf ein späteres Kapitel aufsparen, wenden wir uns zu deren weiterer Ausbildung.

Den Ansporn zu dieser gaben uns mehrere Dinge, vor allem aber die Unannehmlichkeit des Arbeitens mit Ammoniak.

Wir gingen dazu über, ein noch schwächeres Alkali zu verwenden, den Borax, der in 10prozentiger Auflösung sich sehr wohl zum Unterschichten eignet und in denselben ähnlich wie die Ammoniaküberschichtung deutliche Ringbildung veranlaßt.

---

[1]) Solms setzt die Menge der Eiweißlösung nicht in Rechnung und statuiert z. B. in unserem Falle nur 80 Einheiten; diese Bezeichnungsweise ist nicht üblich und ebensowenig empfehlenswert.

III.

Bei all diesen Verfahren gingen wir von der Annahme aus, das Edestin sei in Säure löslich, was es ja auch ist, und könne darum durch Neutralisieren wieder ausgefällt werden. So selbstverständlich dieses Raisonnement scheint, so unhaltbar erweist es sich bei einiger Überlegung.

Das Edestin, die krystallisierende Substanz des Hanfsamens, wird zu den Globulinen gerechnet, was im Grunde nichts anderes besagt, als daß sie in Neutralsalzlösungen von mäßiger Konzentration sich auflöst. Tatsächlich wird ja das Edestin durch Dialyse aus seiner Lösung in kochsalzhaltigem Wasser krystallinisch ausgefällt.

Nun entstand beim Neutralisieren unserer 1 prozentigen salzsauren Lösung mittels $^1/_{10}$ Natronlauge nichts weiter als Kochsalz; trotzdem fiel das Eiweiß aber aus.

Ebenso haben wir gesehen, daß unsere saure Lösung kochbeständig ist, sich dabei auch nicht spurenweise trübt.

Hieraus kann nichts anderes geschlossen werden, als daß in unserer Edestinlösung (und diesen Namen behalten wir nur der Bequemlichkeit halber bei) kein Edestin mehr enthalten ist, sondern ein Körper von den Eigenschaften eines Acidalbumins.

Tatsächlich handelt es sich nach den Untersuchungen Osbornes (19) auch nicht um ein wahres Acidalbumin, sondern um einen Übergang zwischen diesem und dem Globulin, ein von ihm sog. Globan, das Edestan.

Dieses entsteht auffallend leicht und rasch beim Einwirken verdünnter Säuren auf das Edestin, so daß solches unverändert selbst in einer frisch bereiteten Lösung der Art, wie wir sie verwenden, nicht mehr anzutreffen ist.

Das Edestan also ist gegenüber dem Edestin charakterisiert durch den Verlust seiner Salzlöslichkeit in neutraler Lösung.

Es war uns nun interessant nachzusehen, ob hierbei auf die neutrale Reaktion oder auf die Anwesenheit von Salz der Nachdruck zu legen sei, und wir überzeugten uns, daß trotz Weiterbestehens der sauren Reaktion durch nicht sehr große Salzmengen Fällungen hervorgerufen werden.

Wenn man unsere Edestinlösung mit 10 prozentiger Kochsalzlösung unterschichtet, so tritt an der Berührungsstelle ein

Ring auf, nicht minder deutlich, als wenn man Boraxlösung genommen hätte. Tatsächlich ist diese Reaktion von einer überraschenden Schärfe, und sie gestattet noch da unverdautes Eiweiß nachzuweisen, wo die andern Methoden versagen.

Eine derartige Schärfe ist aber nur in Ausnahmefällen und zu ganz speziellen Zwecken erforderlich. Im allgemeinen ist sie nicht nur überflüssig, sondern direkt schädlich; denn durch das Ausbleiben einer solchen überempfindlichen Probe wird nichts anderes angezeigt, als daß die Fermentwirkung ihrem wahren Endzustand nahe gekommen ist. Da aber die Reaktionsgeschwindigkeit im allgemeinen wenigstens von einem gewissen Punkte ab von der Konzentration des Substrates in der Weise abhängt, daß sie mit ihr abnimmt, und zwar mit fortschreitender Abnahme immer stärker, so wird der Endzustand theoretisch erst nach einer unendlich langen Zeit erreicht, und dann wäre die Feststellung der wahren Endreaktion praktisch gar nicht brauchbar. Mischt man dagegen Kochsalzlösung und Verdauungsmischung und achtet auf das Ausbleiben oder Auftreten einer Trübung, so ergibt sich ein besseres Resultat.

Wir gingen daher dazu über, einfach festes Kochsalz in Substanz in die Proben einzutragen und nach einmaligem Umschütteln zuzusehen, ob eine Trübung auftritt oder nicht. In dieser Form ist die Edestinmethode des Pepsinnachweises von einer großen Einfachheit und dabei sehr scharf; denn so viel ist ja klar: je empfindlicher die Eiweißprobe, desto unempfindlicher die Pepsinprobe und umgekehrt. Verlangen muß man nur, daß die gewählte Reaktion leicht erkennbar ist.

Immerhin ist die eben beschriebene Form der Probe noch immer eine Grenzmethode, und ein derartiges Verfahren hat stets neben großen Vorzügen auch unbestreitbare Mängel. Die Vorzüge liegen auf der Hand: man hat eine kleine Reihe von Versuchen vor sich, die einen stetigen Charakter aufweisen muß, wenn kein Fehler vorliegt, oder besondere Verhältnisse vorherrschen, worauf der Reihenversuch eben die Aufmerksamkeit hinlenkt. Dafür sind Reihenversuche stets nur annähernd, und das nur in dem Grad, wie die Reihe an der kritischen Stelle dicht ist.

Aus diesem Grunde haben direkte Bestimmungsmethoden, wenn auch das Gesetz, nach dem sie berechnet werden, oft genug

fragwürdig ist, doch ihr Interesse. Auch eine solche direkte Bestimmung mittels einer einzigen Probe läßt die Edestinmethode zu; es zeigt sich nämlich, daß von einer 10prozentigen Salzlösung um so mehr zu einer Edestinlösung zugesetzt werden muß, um eine Trübung in derselben hervorzurufen, je stärker die Pepsinwirkung war, der sie unterlag; wenn zum Beispiel $^1/_2$ ccm genügt, um 2 ccm Edestinlösung deutlich zu trüben, so genügen auch zwei ganze Kubikzentimeter nicht, um dieselbe Lösung nach halbstündiger Einwirkung einer bestimmten Menge Magensaft zu trüben, während die zwischen diesem Wert und 0 gelegenen Pepsinquanten eine Erhöhung des Salzzusatzes je nach ihrer Größe verlangen.[1])

Wir werden das Protokoll eines derartigen Versuches wiedergeben; vielleicht kommen wir auf diese Sache noch später zurück.

Es ist natürlich auch leicht, das Vorgehen Jacobys nachahmend, eine Edestinlösung durch Salzzusatz zu trüben und in der salzhaltigen Probe die durch die Verdauung herbeigeführte Klärung zu beobachten; bei abermaligem Salzzusatz wird dann in einigen der bereits geklärten Proben aufs neue eine Trübung entstehen müssen; ersteres haben wir ausgeführt, letztere Folgerung ergibt sich aus dem Titrationsversuch ohne weiteres.

Wir erwähnen diese Möglichkeit nicht, als ob wir von den Arbeiten in homogener Lösung abzugehen empfehlen wollten, sondern weil sie uns einen Einblick in die Vorgänge bei der Jacobyschen Ricinprobe zu eröffnen scheint.

Wir haben das Ricin bisher nicht in Händen gehabt; nach der Beschreibung von Solms und Jacoby nehmen wir indessen an, daß es aus guten Gründen in einer (die Pepsinwirkung an sich ja hemmenden) Kochsalzlösung aufgelöst wird, daß es mithin

---

[1]) Man kann auch so vorgehen: Eine einprozentige Edestinlösung wird bereitet, eine passende Menge (5—10 ccm) davon mit dem für diese Zwecke nicht zu stark verdünnten Magensaft digeriert, mit der Verdünnungssäure bis zur Marke aufgefüllt, mit reichlichen Mengen festen Kochsalzes umgeschüttelt, das Umschütteln nach kurzer Zeit wiederholt und die Höhe der aufsteigenden Fällung gemessen, nachdem dieselbe zur Austreibung der Luft eventuell noch mit wenig Äther begossen ist; das ausfallende Eiweiß nimmt sehr rasch sein definitives Volum ein, da es ja unter keinem erheblichen Druck steht, sein Volum steht in umgekehrter Proportion zu der Pepsinmenge und läßt sich nach ganz kurzem Stehen ablesen. Die Fällung der Albumosen erfolgt erst viel später.

mit einem Wort ein Pflanzenglobulin ist; seine an sich etwas trübe Lösung wird nach diesen Autoren durch Säurezusatz noch viel stärker getrübt: es entsteht das Globan, welches durch das bereits anwesende Kochsalz als Trübung ausgefällt wird. (Edestin zu 1% in 5prozentiger Kochsalzlösung gelöst, fällt bei entsprechendem Ansäuern sogleich in Flocken.)

Wenn diese Auffassung richtig ist, und wir haben gar keinen Grund, sie zu bezweifeln, so müssen wir also die mündlichen Äußerungen Fulds rektifizieren, wonach die Trübung der Jacobyschen Ricinlösung auf besonderen Verunreinigungen beruhen sollte: es handelt sich vielmehr um eine derjenigen, welche die Hauptmasse des Präparates resp. seiner Lösung ausmachen.

Zeigt sich hierin nicht so recht evident der Vorteil des Arbeitens mit reinen definierten und gut beschriebenen Substanzen? Nicht nur, daß irrige Annahmen, die man selbst vorübergehend hegte, durch die bekannten Tatsachen rasch ihre Korrektur finden, nein, es gelingt von hier aus auch auf andere Vorgänge, die an sich selbst unübersichtlich sind, ein Licht zu werfen.

Inzwischen hat der eine von uns Gelegenheit genommen, Versuche mit dem „Ricinpräparat nach Prof. Martin Jacoby" der Vereinigten Chemischen Werke Charlottenburg anzustellen. Dasselbe ist ein unreines technisches Produkt, ein Gemenge von allerlei Substanzen, unter anderen dem hochgiftigen, durch Ehrlichs Untersuchungen bekannten Ricin, nach dem es benannt ist, ohne daß dieses etwa für den Verdauungsversuch in Betracht käme. Wir stellten uns zunächst nach der Jacobyschen Vorschrift eine 1prozentige Lösung in Wasser von 5% Kochsalzgehalt her. Dabei wurde das Ricinpulver in der Reibschale mit dem Lösungsmittel verrieben. Der Eiweißgehalt der (nicht nach Vorschrift filtrierten, sondern kolierten) Lösung betrug, nach Eßbach gemessen, nur ca. $^3/_4$ pro mille. Versetzt man in der vorgeschriebenen Weise diese etwas trübe Lösung mit $^1/_{10}$ Salzsäure, so entsteht eine dichte, aus Flocken bestehende Trübung, die beim Stehen immer grobflockiger wird und sofort sich abzusetzen beginnt. Zentrifugiert man die Mischung sofort nach der Bereitung wenige Augenblicke auf einer Handzentrifuge, so setzt der Niederschlag sich sehr gut ab; gleichzeitig geht der Eiweißgehalt der überstehenden Flüssigkeit, ebenfalls nach Eßbach gemessen, auf etwas unter $^1/_2$ pro mille zurück, fast genau

zu demselben Betrage, den man in einer Ricinlösung in Salzsäure von der Acidität 20 feststellt. (All diese Werte sind nach Kontrollversuchen mit abgewogenen Edestinmengen etwas zu niedrig.)

Der Bodensatz, also die Salzsäurefällung aus der salzhaltigen Lösung, ist nach dem Abtropfenlassen der Flüssigkeit nicht wieder in 5prozentiger Salzlösung aufzulösen; nach abermaligem Zentrifugieren ruft in der klaren Flüssigkeit Salzsäurezusatz keinerlei Trübung mehr hervor.

Der die Trübung, oder richtiger den Niederschlag, mit Salzsäure bildende Bestandteil hat also durch einmalige Säurefällung seine Salzlöslichkeit eingebüßt — wir sehen darin eine Bestätigung, daß es sich auch hier um die Umwandlung in ein Globan handelt. Nach Osborne zeichnet sich das Edestin nicht etwa durch die Leichtigkeit, sondern bereits durch eine relative Schwierigkeit des Übergangs ins Globan aus.

Auf diesem letztgenannten Umstand beruht überhaupt die Möglichkeit, ein Edestin von einigermaßen befriedigender Salzlöslichkeit herzustellen. Andere Eiweißarten aus Pflanzensamen gehen in noch viel weiterem Umfang ohne Säurezusatz bereits durch die bloße Behandlung ins Globan über, wie Osborne ausführt. Mit diesem Übergang ist nicht nur die Unlöslichkeit des in Globan übergegangenen Anteils verbunden, nein, die Globane besitzen die Eigenschaft, ähnlich wie die Histone mit andern Eiweißkörpern (welche ja in ungereinigten Produkten nicht fehlen), unlösliche Niederschläge zu bilden. Wir behalten uns vor, von dieser Niederschlagsbildung eventuell zum Nachweis von Edestan usw. in Verdauungsversuchen Gebrauch zu machen. Auf der Anwesenheit von Globan oder von Globaneiweißverbindungen beruht wohl die geringe Löslichkeit des Ricinpräparates, sowie möglicherweise die Trübung, welche sowohl der kochsalzhaltigen wie auch namentlich der direkt mit Salzsäure gewonnenen Ricinlösung eigentümlich sind.

Die letztere Trübung wird ebenfalls von Pepsinsalzsäure angegriffen, eignet sich aber wenig für Verdauungsversuche, da sie merkwürdigerweise sich viel resistenter erweist als der Niederschlag, wie er im eigentlichen Verdauungsversuch nach Jacoby verwandt wird.

Wenn wir schließlich noch hervorheben, daß die Trübung der salzfreien Auflösung von Ricin in Salzsäure durch Kochen

vollständig geklärt werden kann, selbst wenn man nachträglich Salz zugesetzt hat, daß dies aber mit der durch Säure gefällten Salzlösung nicht gelingt, während letztere beim Stehen in $^{2}/_{100}$ Säure sich löst, was dagegen selbst im Verlauf mehrerer Tage nicht bei der ersterwähnten Trübung geschieht, so können wir diese Abschweifung wohl abbrechen, die uns insofern berechtigt erscheint, als Angaben über das Ricingemenge sonst nicht zu existieren scheinen.

Die Empfindlichkeit der Ricinmethode erwies sich übrigens in einem Vergleichsversuch etwas, aber nur unerheblich geringer als die der Edestinmethode unter den gleichen Bedingungen. Wenn aber das Resultat sogar entgegengesetzt ausgefallen wäre, so würde dies in unsern Augen wenigstens nichts an den Vorzügen der von uns eingeführten Methode ändern.

IV.

Wir gehen nun zum zweiten Teil unserer Darstellung über, welcher sich mit den Anwendungen der Methode auf theoretisch und praktisch interessante Fragen befaßt.

Es ist bekanntlich die Lehre aufgestellt worden, daß das Pepsin, ebenso wie es zu seiner Wirkung die Anwesenheit der freien Salzsäure voraussetze, auch stets mit dieser zusammen seceniert werde, ja eine einheitliche Pepsinsalzsäure bilde. Diese Lehre kann durch die gewöhnliche klinische Untersuchungsmethode nicht völlig widerlegt werden, denn es ist klar, daß die Salzsäure durch rückströmenden Duodenalsaft z. B. mehr oder weniger vollkommen neutralisiert werden kann, ohne daß darum das mit ihr zusammen ergossene Pepsin zerstört zu werden brauchte.

Darum hat der eine von uns (L.) die Frage einer erneuten Bearbeitung unterzogen, wobei er den unter verschiedenen Versuchsbedingungen gebildeten reinen Magensaft Pawlowscher Magenblindsackhunde während einiger Stunden auffing und in den einzelnen Portionen die vorhandene Säure bestimmte und gleichzeitig in eben denselben den Pepsinwert ermittelte.

Für den letzteren Zweck bediente er sich der Edestinmethode, weil nur eine Methode, welche mit so starken Verdünnungen zu arbeiten gestattet, wie diese davor schützt, daß irgend welche fördernden oder hemmenden Substanzen, die sich in dem Sekret vorfinden können, die Sicherheit des Resultats beeinträchtigen.

Was speziell das Antipepsin anbetrifft, so hat L. Blum in Gemeinschaft mit Böhme (20) solches im Blindsacksekret nachgewiesen; wir haben uns durch besondere unten mitzuteilende Versuche überzeugen können, daß eine antipeptische Wirkung bei unserer Versuchsanordnung sogar durch absichtliche Anhäufung von Antipepsin in der Verdauungsflüssigkeit nicht hervorzurufen ist. Versuche, welche Levison ausführlich mitteilen wird, führten zu dem Resultat, daß tatsächlich die Sekretionskurven für Pepsin und Säure unabhängig voneinander verlaufen. Weitere Beispiele für die Anwendung der Methodik auf den reinen Pawlowschen Saft wird Herr Feigl mitteilen.

Wir begnügen uns daher hier zu sagen, daß die gewöhnliche Stärke des reinen Hundemagensaftes 400—1600fach ist, allermeistens aber 600—1000fach. Man darf wohl vorläufig annehmen, daß ganz ähnliche Werte auch für den reinen menschlichen Magensaft gelten werden, wie er bei dem von Röder und Sommerfeld (21) beschriebenen Fistelmädchen (Fall von gleichzeitiger Magen- und Speiseröhrenfistel) nach Scheinfütterung ergossen wird.

Zu einem derartigen Versuch hatten wir erst einmal Gelegenheit. Hingegen konnten wir die von dem gleichen Fall, einer Patientin Herrn Dr. Erich Müllers, gelieferten Sekrete einmal nach Einbringung von Wasser, zum andern nach Einführung von Eskalinaufschwemmung untersuchen.

Der Wert bei der Wassersekretion war recht konstant, 160fach, also nicht ganz so hoch wie beim stärksten Pawlowschen Saft; nach Darreichung von Eskalin (Aluminiumbronze) schwankte er von einem noch höheren zu einem etwas niedrigeren. Wir haben den Eindruck, daß im allgemeinen die konzentrierten, schleimigen Säfte stärker peptisch wirken als die reichlicher fließenden — natürlich unter unsern Versuchsbedingungen, denn es ist klar, daß bei der faktischen Magenverdauung die absolute Menge des Pepsins die wesentliche Rolle spielt, während der Verdünnungsgrad nicht durch die Konzentration des Saftes, sondern so gut wie ausschließlich durch die Menge der Nahrung bestimmt wird.

Wir wenden uns nun zu dem gewöhnlichen Probefrühstückfiltrat. Dieses ist nach unseren Erfahrungen bei Euchlorhydrie 200—300fach. Von der 100fachen Verdünnung des Magensaftes

sind mithin 0,1—0,65 ccm erforderlich, um in einer halben Stunde bei Zimmertemperatur 2 ccm Edestinlösung auszuverdauen.

Soweit hat die Ausführung keine Schwierigkeit. Bei Salzsäuremangel jedoch, wo die Werte 20 und 10 nicht immer erreicht werden, ist es nicht empfehlenswert, unverdünnten Magensaft zu benutzen und dann mit Ammoniak zu überschichten. Entweder man verzichtet überhaupt auf die Überschichtung und trägt Kochsalz in Substanz ein, und das ist für die Praxis wohl überhaupt das beste, oder, wenn man die Überschichtung beibehalten will, so nimmt man wie sonst auch eine mäßige Verdünnung, etwa die 10fache, und digeriert eine halbe Stunde bei 37°. Es bedarf keiner Erwähnung, daß kurzdauernde Wärmedigestionen niemals im Luftthermostaten ausgeführt werden können, sondern stets nur im Wasserbad.

Wasser von Bruttemperatur ist ja schnell bereitet, schlimmstenfalls liefert solches der Wassermantel des Thermostaten; in dieses setzt man die Proben und stellt das Ganze zur Aufrechterhaltung der Temperatur in den Brutschrank. Die Zeitrechnung beginnt mit dem Moment, wo die Gläser ins Wasser gesetzt werden, und kupiert wird die Verdauung durch Übertragen der Gläser in Eiswasser oder kaltes Wasser.

Unter diesen Bedingungen wird man die Verdauung in der Wärme ca. viermal so stark finden als in der Kälte (20°), so daß man einen 5fachen Saft noch eben wirksam findet.

Es ist dies darum nötig, weil man sonst leicht dazu kommt, die Stärke solch schwacher Säfte noch weiter zu unterschätzen; wenn man nämlich ein Probefrühstückfiltrat oder auch einen wässerigen Auszug aus Weißbrot mit Ammoniak überschichtet, so tritt (zwar kein scharfer, rein weißer aber doch) ein gelber verwaschener Ring auf. Da dies Phänomen, wie gesagt, auch an wässerigen Brotextrakten zu beobachten ist, so haben wir seine Ursache nicht weiter verfolgt und begnügen uns, auf die Tatsache hinzuweisen.

Die Fälle von Achylie, die wir untersuchten, stammen zum Teil aus der Poliklinik des Herrn Dr. Cohnheim, dem wir für die Überlassung derselben bestens danken, teils aus der Poliklinik und der Privatpraxis des einen von uns. Die gefundenen Werte sind immer klein, im übrigen aber wechselnd und scheinen bis jetzt zu diagnostischen Schlüssen nicht zu berechtigen. Immer-

hin wollen wir mit der Vermutung nicht zurückhalten, daß eine regelmäßig und fortlaufend durchgeführte Pepsinbestimmung, welche fortgesetzte Abnahme der Werte erkennen läßt, mit ebenso großer Sicherheit auf einen destruierenden Prozeß hinweisen dürfte, als ein fortwährender Rückgang der Gesamtsalzsäure (L + C) und zumal beim Fehlen von Salzsäure wichtig werden könnte. Die Mettsche Methode ist wegen ihrer geringen Empfindlichkeit hier gänzlich unbrauchbar, während die modernen Methoden sich hier zu bewähren Gelegenheit haben würden.

In dieser ersten Mitteilung können wir naturgemäß Belege für diese unsere Anschauung noch nicht beibringen.

Betreffend die genaueren Details verweisen wir auf die Protokolle. Man wird aus diesen gleichzeitig ersehen, daß die Empfindlichkeit unserer Pepsinprobe, welche wohl die empfindlichste der bisher beschriebenen sein dürfte, immerhin noch hinter der Labprobe nach Blum und Fuld zurücksteht. Gleichzeitig hatten wir Gelegenheit, uns von dem Vorkommen von Labzymogen bei Abwesenheit von fertigem Enzym im Mageninhalt zu überzeugen, ein Befund, den Becker (22a) schon erhoben hat, während Blum und Fuld unter ihrem Material zufällig keinen sicheren Fall auffinden konnten.

Weiter haben wir uns mit der Frage des Antipepsins beschäftigt. Diese Frage hat zunächst eine rein praktisch-technische Seite. Vergleichen wir nämlich unsere an einem beliebigen Magensaft gewonnenen Resultate mit denjenigen, welche die Methode Metts, die gebräuchlichste unter den bisher angewandten, liefert, so finden wir, daß keinerlei Übereinstimmung stattfindet. Weit besser, wenn auch gewiß nicht vollkommen, ist die Übereinstimmung mit der Schiff-Nierensteinschen Modifikation.

Einen antipeptischen Einfluß zugesetzten aufgekochten Mageninhalts vermochten wir bisher nicht nachzuweisen, obwohl wir ein halbes Volum solcher „Antipepsinlösung“ zu unserer Edestinlösung zusetzten und uns gleichzeitig durch einen Doppelversuch nach Mett und Schiff-Nierenstein von der antipeptischen Eigenschaft des benutzten Saftes überzeugten.

Es besteht bloß noch eine Möglichkeit, die antipeptische Wirkung noch weiter zu begünstigen: man müßte die Edestinlösung direkt mit gekochtem Magensaft bereiten. Jedenfalls zeigen bereits unsere Versuche, daß die Schlußfolgerung Blums

und Fulds gerechtfertigt war, nach welcher das Antipepsin keine wesentlich stärkere Affinität zum Pepsin besitzen kann als das Eiweiß, und daß die Beeinträchtigung der Mettverdauung hauptsächlich mit der geringen Oberfläche der Eiweißsäule, wie überhaupt des koagulierten Eiweißes zusammenhängt. An der Bedeutung des Pepsins für den Schutz der Schleimhaut gegen Selbstverdauung wird hierdurch, wie die Genannten ausgeführt haben, natürlich nicht das geringste geändert.

Wegen ihres starken Antipepsingehaltes, sowie auch wegen des Fehlens des durch Ammoniak mit gelber Farbe ausfallenden unbekannten Stoffes eignen sich die Inhalte nüchterner Mägen, sowie auch die reinen Magensäfte nach Pawlow besonders zu Antipepsinversuchen. Bei der Verwendung von Probefrühstückfiltrat wird man sich zur Feststellung der Verdauungswirkung der Salzfällung bedienen.

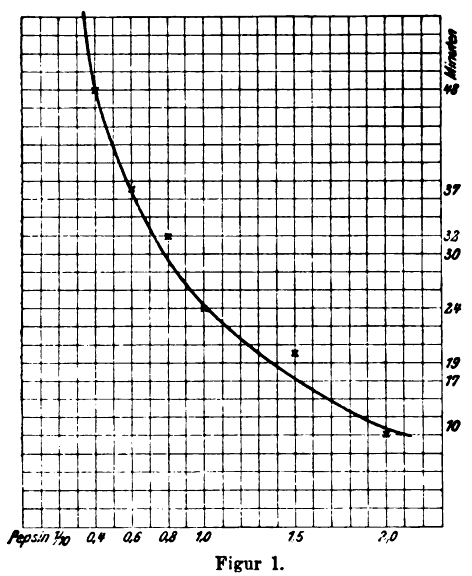
Sodann haben wir noch über eine Anzahl von Versuchen zu berichten, die aus mehr theoretischen Gründen unternommen wurden, und bei denen darum Abänderungen der Methodik erforderlich waren, ohne jedoch, daß wir deren Grundlage verließen.

Mehrere Versuche widmeten wir dem Studium der Gesetze des Pepsins, insbesondere der Abhängigkeit des Verlaufs der Verdauung von der Zeit. Wir gingen dabei so vor, daß wir uns zunächst in der gewohnten Weise über die Stärke des als Pepsinlösung verwendeten Saftes unterrichteten, und alsdann nach Maßgabe dieses Vorversuches einen Reihenversuch ansetzten, in ganz ähnlicher Weise wie sonst, nur mit etwas größeren Volumina, während die Pepsinkonzentrationen so gewählt wurden, daß die Reaktion innerhalb passender Zeiten und mit hinreichenden Zeitintervallen überall bis zu dem kritischen Punkte fortschreiten mußte.

Zuerst wurden nur aus der pepsinreichsten Mischung in schneller Folge Proben entnommen, und erst nachdem hier das erste Ausbleiben der Ringreaktion notiert war, wurde zur Untersuchung von Proben aus der nächsten pepsinärmeren Mischung übergegangen usw., bis überall vollkommene Ausverdauung festgestellt war (vollkommen natürlich in bezug auf die angewendete Methode, durchaus nicht im absoluten Sinn!).

Die nach den gefundenen Werten aufgezeichneten Kurven entsprachen weder der direkten Proportionalität der Wirkung mit der Zeit, noch derjenigen mit der Quadratwurzel aus der Zeit;

vielmehr hat die Kurve den Verlauf einer logarithmischen, wie er ja den meisten derartigen Reaktionen zukommt. Ein geringeres Interesse bietet eine andere Reihe von Versuchen, deren Ziel darin bestand nachzusehen, wie weit in gleichen Zeiten die Wirkung verschiedener Pepsinmengen geht. Dies Verfahren, auf welches sich das vielberufene Schützsche Gesetz gründet, ist für theoretische Zwecke jedoch weniger einwandsfrei, als das erst beschriebene (23); seine praktische Wichtigkeit soll darum nicht verkannt werden. Unsere Versuchsanordnung war hier die folgende: Eine 1 prozentige Lösung von Edestin (also zehnmal konzentrierter, als wir sie sonst anwandten) wurde für den Versuch benutzt. Mit dieser setzten wir wie oben einen Reihenversuch an, nur daß wir das Pepsin nicht in schneller Folge, sondern allemal zu einer sogleich aufnotierten Zeit eintrugen. Jedesmal eine halbe Stunde



Figur 1.

später wurden Verdünnungen mit $^{3}/_{100}$ Salzsäure hergestellt und bestimmt, wie weit man verdünnen mußte, um eben keinen Ring mehr zu erhalten.

Wir suchten auch zu ermitteln, wie weit man die einpromilligt Lösung verdünnen muß, um die Ringbildung zu verhindern, legten jedoch, um die methodischen Fehler nicht ins Ungemessene zu steigern, diesen Wert nicht als Einheit zugrunde, sondern begnügten uns damit, die Verdünnungen einfach festzustellen, die jedesmal erforderlich waren.

Besondere Schlüsse wollen wir aus diesen Versuchen nicht ziehen, sondern uns vorbehalten, mit einer geeigneteren Methodik auf dieselben zurückzukommen.

Endlich beschäftigte uns noch eine biologische Fragestellung. Auf Grund der alten Verfahren war man zu der Ansicht

gelangt, daß der Magensaft seine peptische Kraft lange Zeit unverändert beibehält. So haben z. B. Blum und Fuld nach 24stündiger Brutschrankdigestion eine ebenso starke Verdauungswirkung an einem frisch eingelegten Mettschen Röhrchen erhalten, wie sie es in den ersten 24 Stunden notieren konnten. Auch wir fanden, daß die Säfte ihren Pepsinwert auffallend unveränderlich viele Tage hindurch beibehielten, auch wenn man sie ohne Zusatz im Zimmer stehen ließ. Alle diese Beobachtungen aber sagen natürlich nichts darüber aus, wie sich die Pepsinmenge sofort nach der Ausheberung verändert. Es wäre ja z. B. möglich, daß ein gewisser Anteil sehr schnell zugrunde geht, während der Rest relativ stabil ist; ein derartiges Verhalten würde bei einem Mettversuch durchaus nicht zu erkennen sein, da der Versuch sich über eine viel zu lange Zeit ausdehnt.

Diese Erwartung hat sich nun aber nicht erfüllt. Mittels einer halbstündigen Versuchsdauer in Zimmertemperatur, bei welcher ja die hypothetische Umwandlung wohl auch langsamer verlaufen müßte, konnte wenigstens mit der von uns benutzten Methode kein Unterschied zwischen einem frisch denselben secernierten Saft und nach einem Stehen von mehreren Tagen konstatiert werden.

Zusammenfassung einiger wichtiger Resultate.

In vorstehender Arbeit wurde gezeigt, daß es möglich ist, aus abgewogenen Mengen eines reinen krystallinischen Eiweißkörpers, des Edestins, das sowohl im Handel zu haben wie mit gleichen Eigenschaften im Laboratorium darstellbar ist, mit Leichtigkeit eine vollständige, klare, gebrauchsfertige Lösung für Verdauungsversuche herzustellen, deren Eiweißgehalt allein und direkt abhängt von der Menge des eingetragenen Eiweißes. Die Lösung des Edestins in $^{3}/_{100}$ Salzsäure geht durch den sofort einsetzenden Übergang in Edestan ihrer Beständigkeit bei Gegenwart von Neutralsalz verlustig, während die Edestinalbumosen unter diesen Bedingungen gelöst bleiben, ein Umstand, der es erlaubt, den Fortschritt der Verdauung, sowie die Stärke von Pepsinlösungen und Magensäften in kürzester Zeit bei Zimmertemperatur festzustellen. Am einfachsten geht man so vor, daß man das Minimum an Saft ermittelt, das binnen einer halben Stunde genügt, um eine Ausfällung eines bestimmten Quantums Edestinlösung, z. B. 2 ccm durch festes Kochsalz, zu verhindern.

Die Edestinprobe auf Pepsin steht in erster Reihe, was die Schärfe und die Leichtigkeit der Ausführung anbetrifft; unerreicht ist sie in der Schnelligkeit, mit der sie zum Resultat führt. Wenn ihr in den genannten Beziehungen andere Methoden nahe kommen oder entsprechend umgestaltet werden können, so übertrifft sie alle bisher bekannt gegebenen Methoden, und darunter auch die sonst so empfehlenswerten Labbestimmungen in der Einheitlichkeit und der guten Charakterisierung des Ausgangsmaterials, sowie in der Möglichkeit, in klarer Lösung zu arbeiten.

Da wir im Text gezeigt haben, wie die Methode sich für verschiedene Zwecke teils direkt, teils in Modifikationen anwenden läßt, so glauben wir den Beweis für ihre vollständige Brauchbarkeit geliefert zu haben und zweifeln nicht, daß sie sich in den Händen der Praktiker sowohl wie gelegentlich auch der Theoretiker an Stelle der zumal von letzteren vielfach angewendeten schwerfälligen Methoden bewähren wird.

Protokolle.

Versuch mit 1 prozentiger Edestinlösung; Abhängigkeit der Niederschlagsäule von der Pepsinmenge.

Versuch vom 22. Juni. Einprozentige Lösungen von Edestin in $^1/_{10}$, sowie in $^1/_{20}$ normaler Salzsäure werden mit wechselnden Mengen Hundemagensaftes von Pawlowschen Fistelhunden, sowie ohne Zusatz digeriert, ohne daß die Acidität gegen Phenolphthalein oder Methylorange (resp. Dimethylamidoazobenzol) sich ändert. Dagegen fällt auf, daß die Menge des Niederschlags verschieden ist, je nach dem Pepsingehalt.

5 ccm Edestinlösung in $^1/_{10}$ Säure, 1 Stunde bei Zimmertemperatur digeriert, mit 0, $^1/_2$, 1, 2, 4 Tropfen des mit Wasser aufs Doppelte verdünnten Saftes.

Nur die drei ersten Proben geben beim Neutralisieren mit $^1/_{10}$ Natronlauge einen erheblichen Niederschlag; aber auch nur in diesem setzt er sich unter einer klaren Flüssigkeit ab.

Zweimalige Wiederholung bei Zimmertemperatur gibt das gleiche Resultat.

Die Ammoniakringprobe.

Nach einstündigem Aufenthalt im Wasserbad von 37° gibt nur die pepsinfreie Probe beim Neutralisieren eine Trübung.

Der Versuch wird am 24. Juni in der zuletzt beschriebenen Weise wiederholt, nur daß statt des Zurücktitrierens mit $^1/_{10}$ Lauge mit Ammoniak überschichtet wird. Die drei ersten Proben (mit resp. 0, $^1/_2$, 1 Tropfen Saft) lassen einen stärkeren Ring an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten erkennen. Angedeutet ist derselbe jedoch in allen Proben.

Empfindlichkeit derselben mit 1‰-Lösung.

29. Juni. Um diese geringen Trübungen zu verhüten und überhaupt die Probe empfindlich zu machen, wird eine Lösung von 1‰ Edestingehalt bereitet, und zwar in $^3/_{100}$ Salzsäure. Tatsächlich fielen die ersten Versuche negativ aus, d. h. nur die Kontrolle trübte sich. Z. B. Pawlowsaft aufs Hundertfache verdünnt, 1 Stunde Brutschrank, alle Proben auch mit 0,1 ccm des verdünnten Saftes geben keinen Ring mehr.

Versuche, mit 10prozentiger Kochsalzlösung eine Trübung hervorzurufen (nach Art der Jacobyschen Methode).

9. August. 2 ccm nativer Edestinlösung +0,3 ccm Salzlösung klar,
+0,4 „ schwach trüb,
+0,5 „ deutlich trüb.

Es wird daher eine Verdünnungssalzsäure mit einem Kochsalzgehalt von 2% bereitet und die Klärung einer Reihe untersucht, die mit der 100fachen salzhaltigen Verdünnung eines Magensaftes 1 : 600 (nach der üblichen Methode gemessen), je 2 ccm Edestinlösung und je 0,5 ccm 10prozentiger Kochsalzlösung angesetzt ist. Es wird der Wert so nur gleich $^1/_{100}$ gefunden (Zimmertemperatur 30′).

Versuch der Titration mit Kochsalzlösung nach beendeter Digestionszeit.

Saft 1 : 100 ccm	10proz. Kochsalzlösung bis zu (gleich starker) Trübung	d. h. mehr als für 2% Salzgehalt berechnet
	0.5	
0,1	0,6	0,1
0,16	0,7	0,15
0,25	0,8	0,25
0,40	1,2	0.60
0,64	2,1	1,35
1,0	∞ weit mehr als 2,5	∞

Versuch mit Kochsalz in Substanz.

Saft von Gastritis acida 20. August. 20fache Verdünnung, 1/2 Stunde Zimmertemperatur. Keine Trübung im Glas mit 0,4: der Saft ist 100fach. Derselbe Versuch mit Ammoniaküberschichtung. Kein Ring bei 0,64: der Saft ist 60fach.

Pepsinwerte des reinen Magensaftes von Hunden und Schwankungen derselben.

Indem wir die älteren Versuche mit lange aufbewahrtem Pawlowsaft wegen dessen verringerter Wirksamkeit weglassen, greifen wir ein paar beliebige Beispiele von Säften heraus, die aus dem Magenblindsack entnommen wurden, nachdem Wasser in den großen Magen eingeführt worden war. Wir bemerken, daß unter dem Einfluß verschiedener teils gelöster, teils unlöslicher Substanzen alle Variabeln sich änderten, Sekretionsmenge, Acidität und Pepsin; diese Änderungen sind jedoch sowohl der Größe als sogar dem Sinne nach gänzlich unabhängig voneinander. Die Acidität allerdings nähert sich im Lauf des Versuchs immer mehr einem bestimmten hohen Wert — für die Pepsinmengen besteht eine solche Regelmäßigkeit nicht.

Versuch vom 11. Juli. Hund Nero, Wassersekretion.

Saft entnommen nach	Saftmenge in ccm	Erforderliche Menge d. hundertfachen Verdünnung des (gemischten) Saftes	Pepsinwert	HCl frei (L.)	HCl total (A.)
1/2 Stunde	3,6	0,4	500 Fünfhundertfach	nicht gemessen	nicht gemessen
1 „	0,1				
1 1/2 Stunden	0,5				
2 „	0,2				
2 1/2 „	0,3				
Das gleiche nachdem nunmehr Magnesium metallicum eingeführt ist.					
1/2 Stunde	6,5	1	200	65	85
1 „	3,2	1	200	70	90
1 1/2 Stunden	1,8	1	200		
2 „	1,2	0,64	300		
2 1/2 „, 3 „, 3 1/2 „	2,3	0,64	300	60	80

Versuch vom 12. Juli. Hund Max, Wassersekretion.

Saft entnommen nach	Saftmenge in ccm	Erforderliche Menge d. hundertfachen Verdünnung des (gemischten) Saftes	Pepsinwert	HCl frei (L.)	HCl total (A.)
1/2 Stunde	3,2	0,64	300	110	115
1 "	1,1				
1 1/2 Stunden	0,6				
2 "	0,3				

Betreffs weiterer Beispiele verweisen wir auf die bevorstehenden Arbeiten Feigls und Levisons, sowie auf das Folgende — die Zahl der ausgeführten Versuche ist sehr beträchtlich.

9. Juli. Der Pepsinwert reinen Magensaftes vom Menschen (Scheinfütterung eines Falles mit Magen- und Oesophagusfistel). 1,0 der 100fachen Verdünnung, 2 ccm Edestin 1‰, 1/2 Stunde Zimmertemperatur: kein Ring. 0,5 derselben gibt noch einen ganz schwachen Ring: der Saft ist zwischen 200- und 400fach, jedoch näher an letzterem Wert gelegen.

40′ nach Einführung von Wasser: 800fach; L : 65; A : 75;
70′ „ „ „ „ : 800fach; L nicht bestimmbar; A ebensowenig;
170′ „ „ „ „ : 800fach; L : 75; A : 85.
10′ nach Einführung von Eskalin: 1250fach; L : 35; A : 60 (Titration zweimal ausgeführt);
30′ „ „ „ „ : 800fach; L : 65 A : 85;
110′ „ „ „ „ : 500fach; L : 80; A : 110 (zweimal titriert).

Jede Portion war während 10 Minuten gesammelt; die große Differenz der L- und A-Werte beruht auf der Bildung von Aluminiumchlorid; beim Neutralisieren fällt Aluminiumhydroxyd aus.

Nachstehend einige Werte von Probefrühstückfiltraten bei Anwesenheit von freier Salzsäure (L +).

Diagnose	Pepsinwert	L-Werte
Gastritis acida	500	20
Ulcus chronic.	125	20
Gastritis chronic. ulcus duodeni?	200	nicht notiert, jedoch stets normal.

Weitere Beispiele weiter unten.

Nachstehend einige Erfahrungen mit achlorhydrischen Säften.

13. Juli. Drei Fälle von Achlorhydrie bei Zimmertemperatur $^1/_2$ Stunde: sämtlich negativ, selbst mit 1,0 unverdünnten Saftes (wir hatten damals die Fehlerquelle noch nicht erkannt, die in der Reaktion des Brotextraktes resp. Probefrühstücks mit Ammoniak liegt). Mit zweien der Säfte Versuch im Wasserbad von 37° während einer halben Stunde: Saft 1 20fach, Saft 2 nicht ganz 3fach.

Saft 1 enthält freies Lab: geprüft nach der Methode von Blum und Fuld in der Stärke $^1/_{60}$.

Saft 2, sowie Saft 3 labfrei; dagegen enthält der eine der Säfte Labzymogen.

2 ccm des Saftes, versetzt mit 0,6 ccm $^1/_{10}$ HCl, werden während 5 Minuten ins Wasserbad gesetzt und alsdann 0,5 ccm $^1/_{10}$ Lauge zugegeben (nicht mehr, mit Rücksicht auf die Alkaliempfindlichkeit des Ferments); 0,4 ccm hiervon bringen in 1 Stunde bei Zimmertemperatur 5 ccm Milch zur Umwandlung (so daß sie bei 40° schnell gerinnen). Auf 2 Stunden berechnet ist die Stärke also 1 : 25. Es bedarf keiner Erwähnung, daß $^1/_{80}$ ccm $^1/_{10}$ Säure, die in 0,4 ccm Saft enthalten ist, keine Rolle spielt — der andere ganz ähnlich behandelte Saft zeigte keinen Zymogengehalt.

In ähnlicher Weise verglichen wir die Resultate der Mettschen Methode in ihrer ursprünglichen Gestalt, sowie in ihrer Modifikation durch Nierenstein und Schiff mit denjenigen der unsrigen.

Alle Versuche wurden ohne Unterschied bei der L-Acidität 30 ausgeführt, welche auch Blum und der eine von uns stets als die mittlere (für Probefrühstücksäfte) bevorzugt hatten. Die Berechnungsweise, sowie deren Rechtfertigung ist bei diesen nachzulesen. Die Resultate stellen wir kurz in Tabellenform zusammen.

Datum	Pepsin						
	L-Acidität	L-Defizit	nach Mett	nach Schiff	nach L. u. F. bei 20°	Nach L. u. F. bei 37°	Diagnose
6. 8.	—	10	1,0 ccm	0,0 ccm	bei ca. 7	30 fach	Achlorhydrie
6. 8.	—	5	2,5 „	1,5 „	30 fach	bei ca. 120	Achlorhydrie
7. 8.	40	—	3,5 „	3,0 „	500 „	—	alter Hundemagensaft aus Vorratsflaschen
9. 8.	15	—	3,5 „	2,5 „	120 „	—	Fälle aus Dr. Cohnheims Poliklinik
9. 8.	30	—	3,0 „	2,5 „	120 „	—	
9. 8.	45	—	5,7 „	4,0 „	250 „		

Mittels unserer Methode läßt sich eine Antipepsinwirkung des gekochten Saftes nicht bemerken, obwohl dieselbe beim Vergleich der nach Mett und der nach Nierenstein-Schiff erhaltenen Werte deutlich, und bei Benutzung des gekochten Saftes zur Verdünnung die Verdauung der Mettschen Röhrchen total verhindert.

Es handelt sich um einen Fall von supersecretio digestiva, Versuchsanordnung wie oben.

Pepsin nach Mett 6 (6, 5,5, 6,6); des aufs 16fache mit $^3/_{100}$ Säure verdünnten Saftes 2,7 (2,5, 2,5, 3,3); ebensolche Verdünnung und Acidität jedoch als Verd.-Flüssigkeit gekochter Saft 0,0 mm (Ende der Eiweißsäule gequollen).

Pepsin nach F. und L. 200fach; ebenso, nachdem die Saftmengen 5′ zuerst mit 1,0 gekochten Saftes gestanden haben und dann erst 2 ccm Edestinlösung hinzukommt, 200fach.

Versuch vom 2. August über die Abhängigkeit des Zeitpunktes der Ammoniakreaktion von der Pepsinmenge.

Bei 2,0 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt nach 10′,
„ 1,5 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt bei 19′,
„ 1,0 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt nach 24′,
„ 0,8 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt nach 32′,
„ 0,6 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt nach 37′,
„ 0,4 ccm Pepsin $^1/_{10}$ auf 10 ccm Edestin 1$^0/_{00}$ wird die Ringbildung zuerst vermißt nach 48′.

Wir verweisen auf die graphische Darstellung dieses Versuches im Text und bemerken, daß am 31. Juli eine ganz übereinstimmende Kurve erhalten wurde.

23. Juli. Versuch zu bestimmen, wieweit innerhalb einer gegebenen Zeit bei verschiedenen Pepsinmengen die Verdauung fortschreitet.

Je 10 ccm 1prozentiger Edestinlösung werden während einer halben Stunde mit dem unten verzeichneten Vorratsaft

(aus Pawlowschen kleinen Mägen gesammelt) versetzt; bei den angegebenen Verdünnungen bleibt die Ringbildung aus resp. hört auf, deutlich zu sein.

Kubikzentimeter Saft	erforderliche Verdünnung
0,15	4/10
0,10	3/10
0,064	2/10
0,04	1/10
0,025	1/20
0,016	1/50?

Der Saft behält tagelang die sofort festgestellte Pepsinmenge bei.

17. Juli. Scheinfütterungssaft vom Hund (frisch)

Portion 1: 200fach,
„ 2: 300 „
„ 3: 200 „

Dieselben Säfte am 19. Juli

Portion 1: ca. 250fach,
„ 2: „ 200 „
„ 3: „ 200 „

Verzeichnis der benutzten Literatur.

1) Mett, zit. nach Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Deutsch v. Walther, Wiesbaden 1896, 31f.
2) Blum und Fuld, Zeitschr. f. klin. Med. 58, Heft 5/6.
3) Vgl. Riegel, Die Erkrankungen des Magens 1903, 146 unten.
4) Nierenstein und Schiff, Arch. f. Verdauungskrankh. 8, 559.
5) Kaiserling, Berl. klin. Wochenschr. 1903, Nr. 44.
6) E. Schütz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 577.
7) Gläßner, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 1, 5.
8) Blum und Fuld, Berl. klin. Wochenschr. 1905, Festnummer für Ewald.
9) Grützner, Arch. f. d. ges. Physiol. 16, 105, 1878.
10) Hammerschlag, Intern. klin. Rundschau 1895, Nr. 39 (zit. n. Maly).
11) Thomas und Weber, Centralbl. f. Stoffwechsel usw. 2, Nr. 14, zit. nach dem Folgenden.
12) Volhard, Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 49.
13) Löhlein, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, Heft 1/3, Sonderabdruck.

14) Jacoby, Zur Kenntnis der Fermente und Antifermente, diese Zeitschr. 1906—1907.

15) Solms (nebst Schlußbemerkung von Jacoby), Zeitschr. f. klin. Med. **64**, Heft 1/2.

16) Liebmann, Festschr. d. königl. Friedrichhospitals (Kopenhagen), zit. n. Münch. med. Wochenschr. **1907**.

17) Brücke, zit. n. Hammarsten, Lehrb d. physiol. Chem **1904**, 30, 302.

18) Wohlgemuth und Röder, diese Zeitschr. **2**, 421.

19) Osborne, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 225.

20) Blum und Böhme, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **9**, 74.

21) Röder und Sommerfeld, Berl. klin. Wochenschr. **1904**, 301.

22) Becker, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, Heft 1/3 (Sonderabdruck).

23) Bredig, Elemente der chemischen Kinetik, in Spiro-Ashers Ergebn. d. Physiol. **1902**.

24) Fuld, Vortrag, gehalten in der Berliner physiol. Gesellsch **1906**.

Über das Auftreten einer Benzoesäure-Glucuronsäureverbindung im Hammelharn nach Benzoesäure-Fütterung.

Von

Adolf Magnus-Levy.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 28. September 1907.)

Wenn man einem Hammel große Mengen benzoesauren Natriums gibt, so tritt im Harn eine rechtsdrehende, stark reduzierende Substanz auf, die ein Osazon gibt, aber nicht gärt. Ein Körper von diesen Eigenschaften war bisher unbekannt. Ich bin ihm bei Versuchen über die Herkunft des Glykokolls begegnet. und habe ihn bereits in einer kurzen Mitteilung[1]) angekündigt, mit dem Bermerken, daß es sich weder um Traubenzucker noch um freie Glucuronsäure handle.

Dieser Körper, dem anscheinend schon mehrere Forscher bei ähnlichen Versuchen am Kaninchen und Hund begegnet sind, ist eine Verbindung zweier Säuren, eines Moleküls der Benzoesäure mit einem Molekül Glucuronsäure. Es ist mir gelungen, die Benzoylglucuronsäure aus dem Bleiessigniederschlag des Harns in Form ihres krystallisierenden Strychninsalzes zu isolieren und ihre Natronverbindung darzustellen.

Das Interesse, das dieser Fund bietet, ist ein doppeltes, in chemischer Hinsicht und in physiologischer. In rein chemischer

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. **1905**, 7. Nov. — Das Resultat der weiteren Arbeit, die Isolierung und Eigenschaften der Benzoylglucuronsäure, habe ich bei der Setschenow - Feier der russischen Gesellschaft der Ärzte in Petersburg im April **1907** vorgetragen.

Beziehung weichen die Eigenschaften der neuen Verbindungen von denen der anderen Glucuronsäuren vollständig ab. Diese sind (mit einer gleich zu nennenden Ausnahme) ausschließlich Verbindungen mit einem, die Hydroxylgruppe tragender Paarling, aber nicht mit Säuren; alle bisher bekannten gepaarten Glucuronsäuren drehen, als Säuren wie auch als Salze, die Ebene des polarisierten Lichtstrahles nach links. Sie müssen ferner sämtlich, um Kupferoxyd zu reduzieren, zunächst durch stärkere Eingriffe gespalten werden, entweder durch Kochen mit Säuren oder bei den leichter zerlegbaren, durch längeres oder kürzeres Kochen mit der alkalischen Kupferlösung. In allen diesen Punkten zeigt die neue Substanz ein verschiedenes Verhalten. Erst vor 3 Jahren hat Jaffé die erste Säure-Glucuronsäureverbindung im Stoffwechsel aufgefunden, eine Dimethylaminobenzoesäure-Glucuronsäure. In die von ihm entdeckte Gruppe gehört auch der von mir isolierte Körper als das zweite Glied dieser Klasse. Die beiden Verbindungen sind äußerst leicht spaltbar, sie reduzieren Kupferoxyd sofort beim ersten Erwärmen ohne Kochen, d. h. mit derselben Leichtigkeit wie Traubenzucker oder freie Glucuronsäure. Der Harn meines Hammels reduzierte Fehlingsche Lösung sogar schon in der Kälte nach ½ Stunde. Jaffés Substanz dreht zum mindesten nicht links; der Autor, der sie in freiem Zustand und in ihren Salzen optisch wirkungslos oder ganz schwach rechtsdrehend fand, läßt es unentschieden, ob diese geringe Rechtsdrehung dem ungespaltenen Körper zukäme oder von einer beginnenden Zerlegung herrühre.

Das Benzoylglucuronsäure-Natrium dreht stark rechts. Das gleiche gilt von der freien Säure.

In chemisch-physiologischer wie in physiologischer Hinsicht sind folgende Punkte wichtig. Erstens ist eine Aufklärung der reduzierenden Eigenschaften des Harns nach Verfütterung von Benzoesäure gewonnen. Zweitens hat sich herausgestellt, daß der Organismus sich zur Entgiftung der Benzoesäure nicht nur, wie längst bekannt, des Glykokolls bedient, sondern daß er auch hier, wie bei so zahlreichen anderen körperfremden Substanzen, unter Umständen die Glucuronsäure heranzieht. Und drittens ist damit ein Hinweis gegeben zur Aufklärung des in manchen Fällen bisher rätselhaften Verbleibs der Benzoesäure. Verschiedene Autoren haben bei der Suche nach dem Schicksal der eingegebenen Benzoe-

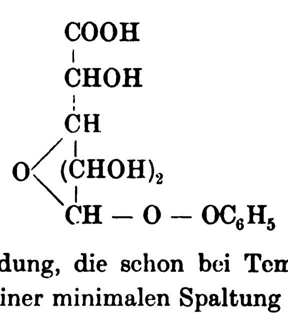
säure beim Kaninchen nicht die ganze Menge im Harn und Kot wiedergefunden[1]). Man hat darum die Möglichkeit einer Oxydation dieser Säure angenommen. Das Vorhandensein einer neuen bisher unbekannten Benzoesäureverbindung verkleinert das beobachtete Defizit. Nach meinen, allerdings nur nebenher auf diesen Punkt gerichteten Untersuchungen findet man in einzelnen Fällen auch nach Zuführung großer Mengen alle Benzoesäure beim Kaninchen und Hammel wieder, so daß man für diese Fälle eine Verbrennung der Benzoesäure im Organismus mit Bestimmtheit in Abrede stellen kann.

Zusammensetzung und Konstitution der Benzoylglucuronsäure.

Die Formel der neuen Verbindung ist

$$C_{13}H_{14}O_8 = C_6H_5COOH + C_6H_{10}O_7 - H_2O.$$

Für ihre Konstitution kommen die gleichen Erwägungen in Betracht, die Jaffé für seine Substanz angestellt hat. Ein „gemischtes Anhydrid" ist ausgeschlossen, da sie in ihren Verbindungen als einbasische Säure reagiert. Unwahrscheinlich ist ferner, daß die Benzoylgruppe an einem Alkoholradikal der Glucuronsäure sitzt. Diese Bindung ist gegen Alkali in der Kälte ziemlich beständig; die von Thierfelder[2]) synthetisch dargestellte Dibenzoylglucuronsäure ist in Wasser ganz unlöslich: die neue Substanz zeigt genau die entgegengesetzten Eigenschaften. Damit wird die Annahme einer Bindung des Paarlings an die Aldehydgruppe, die ja für fast alle anderen Glucuronsäuren erwiesen ist, ziemlich wahrscheinlich.



Die schwache Bindung, die schon bei Temperatur unter 50° in neutraler Lösung einer minimalen Spaltung unterliegt, wird durch

---

[1]) Vgl. Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 231 ff., 1906.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**, 275.

Einwirkung von alkalischer Kupferlösung so leicht zerlegt, daß sich daraus die beim Erhitzen sofort eintretende starke Reduktion leicht erklärt. Daß auch schon in der Kälte nach 30 Minuten Kupferoxydul ausfällt, wurde bereits oben bemerkt.

Beobachtungen anderer Autoren.

E. Salkowski[1]) war der erste, der die reduzierende Eigenschaft des Harns nach Benzoesäurefütterung beim Kaninchen, beim Hund und auch beim Menschen fand. Seine Angabe, daß der Harn ein „außerordentlich starkes Reduktionsvermögen" für Kupferoxyd usw. gezeigt hätte (also anscheinend ohne Spaltung durch Säure und ohne längeres Kochen mit Fehlingscher Lösung), daß er nicht gärungsfähig gewesen sei, stimmt mit unseren Beobachtungen überein. Der Harn war optisch inaktiv; das kann ebenso wie bei den Beobachtungen anderer Gelehrter darauf beruhen, daß die Rechtsdrehung der nur in geringer Menge vorhandenen Substanz durch andere linksdrehende Körper (gepaarte Glucuronsäuren) gerade kompensiert wurde. Ein von Salkowski erhaltenes Bariumsalz war stickstoffhaltig und gab die Nitrobenzolreaktion. Da das Präparat aber wahrscheinlich nicht ganz rein gewesen[2]) ist, so steht der Vermutung nichts entgegen, daß der Harn des Kaninchens dieselbe Substanz enthalten habe, wie der des von mir untersuchten Hammels.

Das gleiche läßt sich von den Untersuchungen Konrad Sieberts[3]) sagen. Er fand im Harn stets starke und anscheinend schnell eintretende Reduktion. Der Urin vom Kaninchen drehte bald links, bald rechts, bald war er inaktiv, der Hundeharn drehte dagegen nie rechts. Siebert spaltete die Substanz und erhielt Glucuronsäure; den anderen Paarling konnte er nicht isolieren. Er stellte nur fest, daß er weder eine Oxybenzoesäure noch Benzylalkohol sei. — Anscheinend war auch hier Benzoylglucuronsäure im Harn vorhanden, daneben muß aber noch eine andere Glucuron-

---

[1]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 25, 1877; 4, 135, 1880.

[2]) Der angebliche Chlorgehalt rührte von einer Verunreinigung des angewandten Salpeters mit Chloraten her.

[3]) K. Siebert, Über die nach Benzylaldehyd und Benzoesäuredarreichung im Harn auftretenden reduzierenden Stoffe. Inaug.-Diss. (b. Jaffé), Königsberg 1901.

säure anwesend gewesen sein. Das geht aus der Angabe Sieberts hervor, daß nach dem Zerlegen des Bleiessigniederschlages mit verdünnter Schwefelsäure das Filtrat zunächst optisch inaktiv war und nach 10stündigem Kochen eine Rechtsdrehung von 0,7% zeigte.

Auch Kobert[1]) hat bereits im Jahre 1880 die reduzierende Substanz als Glucuronsäure ausgesprochen.

Th. Brugsch und R. Hirsch[2]) sind nach Benzoesäuredarreichung beim Hungerhunde offenbar dem gleichen Körper wie ich begegnet. Sie sprechen selber, unter Hinweis auf meine vorläufige Mitteilung, die Vermutung der Identität aus, ohne indes einen Versuch zur Isolierung gemacht zu haben. Der Harn ihrer Hunde reduzierte intensiv und drehte die Ebene des Lichtes stark nach rechts (0,2—1,6°). Die Substanz vergor nicht, gab aber ein Osazon, die Drehung nahm nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure nicht zu. Das sind Eigenschaften, die durchaus der Benzoylglucuronsäure zukommen. — Trotzdem geben die Autoren an, es könne sich wegen der Rechtsdrehung nicht um eine gepaarte und wegen mangelnder Orcinreaktion auch nicht um freie Glucuronsäure handeln. Dieser Irrtum ist begreiflich. Rechtsdrehende gepaarte Säuren waren eben noch nicht bekannt. Das Fehlen der Orcinreaktion im Harn selber hat auch mich zuerst lange getäuscht; die Probe ist mir im Harn selbst trotz zahlreicher Versuche nie gelungen, wohl aber stets, wenn der Körper erst von der Hauptmenge der Hippursäure usw. befreit worden war. — Brugsch und Hirsch sprechen mit Sicherheit aus, daß in der reduzierenden Substanz die Benzoesäure in einer bisher unbekannten Bindung enthalten sei. Das ist, wie meine Versuche zeigen, richtig. Nur fehlt in der genannten Arbeit jeder Beweis dafür oder auch nur ein Hinweis darauf, wie die Autoren zu dieser Annahme kamen.

Nach diesen Beobachtungen anderer Autoren halte ich es für sicher, daß auch beim Hund, Kaninchen und beim Menschen eine Benzoylglucuronsäure nach Benzoesäureverfütterung im Harn auftreten kann. In manchen Fällen scheinen noch weitere, allerdings

---

[1]) Kobert, Schmidts Jahrb. **185**, 113, 1880.

[2]) Th. Brugsch und R. Hirsch, Hippursäuresynthese und Ausscheidung der Benzoesäure beim Hunde. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **3**, 663, 1906.

langsam reduzierende Stoffe an der Reduktion beteiligt zu sein. Ob diese Substanzen, unter denen sicher auch andere gepaarte Glucuronsäuren[1]) auftreten (s. d. Beobachtungen von K. Siebert), etwas Direktes mit der Benzoesäurefütterung zu tun haben, d. h. ob sie als Paarling irgend ein Benzoesäurederivat enthalten, läßt sich nicht sagen. Vielleicht sind es die gewöhnlich im Urin erscheinenden gepaarten Glucuronsäuren, die unter dem Einfluß der Benzoesäure in größerer Menge auftreten. Beim Hammel habe ich auf das Auftreten anderer Stoffe nicht gefahndet; ich habe nur die Abwesenheit von Traubenzucker festgestellt und mich davon überzeugt, daß nach Bleiessigfällung der Harn öfters linksdrehende, erst nach Spaltung reduzierende Substanzen enthielt.

Der Grund dafür, daß keiner der früheren Forscher die Benzoesäure als Bestandteil des reduzierenden Körpers aufgefunden hat, liegt in der außerordentlichen Zersetzlichkeit der Substanz. Selbst in neutraler Lösung tritt[2]) in der Wärme schon teilweise Spaltung ein, und die abgespaltene Benzoesäure mußte, wenn sie überhaupt gefunden wurde, als von vornherein freie erscheinen.

Nur Jaffé[3]) hat die Natur des reduzierenden Körpers geahnt. Als er die schon erwähnte Dimethylaminobenzoylglucuronsäure aufgefunden hatte, sprach er sofort die Ansicht aus, daß dieser neue Typus von Säure-Glucuronsäureverbindungen im Stoffwechsel eine weitere Verbreitung hätte. Er hat vermutungsweise auf die nunmehr nachgewiesene Benzoesäureglucuronsäure hingedeutet.

Bedingungen des Auftretens und Größe der Ausscheidung.

Bekam der Hammel zweimal je 10 g Benzoesäure (als Natronsalz)[4]) am Tage, so reduzierte der Harn nicht und drehte 0,1—0,2°

---

[1]) Auch in meinen Versuchen bin ich mehrfach linksdrehenden, erst nach Kochen mit Säuren reduzierenden Stoffen begegnet.

[2]) Außer, wenn der Körper schon ganz rein dargestellt ist.

[3]) M. Jaffé, Verhalten des p-Dimethylaminobenzaldehyds im tierischen Stoffwechsel. Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 374—396, **1904**.

[4]) Ich habe die Benzoesäure stets als Natronsalz gegeben, die Mengen aber als Benzoesäure berechnet. Die Lösung enthielt 236 g Na benzoicum im Liter, das sind genau 200 g Benzoesäure. Sie wurde mittels der Schlund-

nach links. Dagegen trat die gepaarte Glucuronsäure schon nach einmaliger Gabe von 15 g in jeder Fütterungsreihe ausnahmslos nach einigen Stunden in größerer Menge auf (Mindestdrehung im ersten Harn von 12 Stunden +0,4—0,5°). Während 1½ Jahre in 13 Versuchen habe ich sie nie vermißt. Die Ausscheidung war meist 12 Stunden nach der letzten Fütterung beendet; nur nach besonders großen Gaben dauerte sie 24 Stunden an. Die Art der Ernährung (Heu oder reine Milch- und Zucker- oder Reisfütterung) scheint auf die Größe der Ausscheidung ohne Einfluß zu sein, auch im Hunger wird sie in großen Mengen gebildet (s. d. Tabelle auf S. 509).

Der Berechnung der ausgeschiedenen Quantität lege ich die Drehung des Natronsalzes zugrunde. Da der Harn große Mengen von Natronsalzen (von der Fütterung herrührend) enthielt, wird die Übertragung des Drehungswertes der wässerigen Lösung auf die Lösung im Harn annähernd richtige Werte geben. (Der Harn wurde stets mit Essigsäure neutralisiert und mit ganz wenig Bleiacetat geklärt.) Eigentlich wäre es nötig gewesen, die Drehung des Natronsalzes im Harn durch Auflösen einer gegebenen Menge in einem optisch-inaktiven, an Hippursäure und Benzoesäure reichen Hammelharn zu bestimmen; ich habe bei der Kostbarkeit der Substanz, mit der noch weitere Untersuchungen vorgenommen werden sollten, darauf verzichten müssen.

Eine Rechtsdrehung entsprechend 1% Traubenzucker zeigt einen Gehalt von 1,17% des Natronsalzes (s. weiter unten S. 518); oder da 320 g Salz 298 Säure und diese wiederum 122 gebundene Benzoesäure enthalten, so ist

jedes Prozent Drehung = 1,17% Natronsalz
= 1,09% Säure
rund = 0,44% gebundene Benzoesäure.

Mit Benutzung dieser Werte habe ich die Ausscheidungsgrößen berechnet; ich gebe hier nur die Zahlen einiger wichtigerer Versuche wieder.

---

sonde eingegeben, mit Wasser nachgespült. Der Hammel wog zu verschiedenen Zeiten 45—55 kg. Er soff bei Eingabe großer Benzoesäuremengen im Gegensatz zu sonst große Wassermengen.

Benzoesäure gefüttert pro Tag (in 2 Portionen) zusammen g	Dauer des Versuchs Tage	Urinmenge pro Tag l	Drehg. entspr. Glucoseprozenten	Benzoylglucuronsäure in dem ganzen Versuch g	pro Tag g	darin gebundene Benzoesäure pro Tag g
20	2	—	—	0	0	0
30	3	1,2—2,0	0,55—0,6	33,8	11,3	4,6
35	3	1,3—1,9	0,5—0,9	32,4	10,8	4,4
35	3	1,5—2,5	0,5—1,0	45,0	15	6,15
40 (30—50)	4	1,9—2,3	0,4—1,6	66,9	16,7	6,85
2 tägiger Versuch:						
I. 40	1	3,4	0,71	26,7	26,7	11,0
II. 50	1	1,2 + 0,6	2,3 1,3	30,0 } 8,5 }	38,5	15,8
3.—5. Hungertag						
30	3	2,0—3,0	0,4—0,9	44,2	14,7	6.0

Die so berechneten Werte sind Maximalwerte: Denn ich habe nur die wirkliche Rechtsdrehung in Betracht gezogen, nicht auch die „latente". Der Hammelurin enthielt stets lävogyre Substanzen (0,1—0,2°, einmal sogar entsprechend 0,4°), deren Drehungswert ich aber bei Anwesenheit des rechtsdrehenden Körpers nicht bestimmen konnte und daher außer Rechnung gelassen habe. — Man könnte einwenden, daß, da der alkalische Harn 12—24 Stunden bis zur Bestimmung des Drehungswinkels stand, eine teilweise Spaltung der gepaarten Glucuronsäure eingetreten sein könne, und daß die Salze der freien Glucuronsäure stärker drehen als die der gepaarten. Das Gegenteil ist der Fall. Die spezifische Drehung des glucuronsauren Kaliums[1]) (die des Natriums ist nicht bekannt) ist mit +21,25 bis 21,82° knapp halb so groß[2]) wie die des benzoylglucuronsauren Natriums (+43,86°). Ob eine Spaltung im alkalischen Harn stattfindet, ist nicht zu entscheiden, da eine quantitative Bestimmung der gepaarten und der freien Säure nebeneinander unmöglich ist. Abspaltung freier Säure aber würde die Drehung verringern und somit die Werte der Benzoylglucuronsäure zu klein und nicht zu groß erscheinen lassen.

Im Durchschnitt 3—4 tägiger Reihen werden nach 30—35 g Benzoesäure täglich 11—17 g der gepaarten Glucuronsäure ausgeschieden, 13—20% der eingegebenen Benzoesäure finden sich in dieser Form. Bei 50 g Benzoesäure fand ich einmal 33, ein andermal sogar 38,5 g der gepaarten Glucuronsäure, d. h. bis 30% des Giftes waren in dieser Form gebunden.

[1]) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. 11, 399, 1887.

[2]) Tatsächlich verminderte fünfstündiges Kochen einer (nicht ganz reinen) Lösung des Körpers mit 10% H_2SO_4 die Rechtsdrehung auf fast die Hälfte.

Über die Drehungswinkel gibt die Tabelle Auskunft, das Maximum war +2,3%, berechnet in Traubenzuckerprozenten. Der Hammel trank große Mengen Wassers und lieferte 3—4mal so viel Harn als in der Norm.

Im allgemeinen steigt bei wachsender Gabe die Größe der Paarung der Benzoesäure mit der Glucuronsäure, und zwar viel stärker, als dem arithmetischen Verhältnis entspricht. Der Umfang der Paarung geht der sichtbaren Giftwirkung parallel. Bei 20 g täglich blieb der Hammel ganz munter, es trat keine gepaarte Substanz auf; bei 30 g verlor er die Freßlust, er nahm am dritten Tage wenig, am vierten fast keine Nahrung[1]), bei 40 und 50 g traten schwere Vergiftungserscheinungen auf. (Hochgradige Erregbarkeit namentlich bei Geräuschen und Berührungen, Schwäche in den Beinen usw.) Die Paarung mit der Glucuronsäure trat also bei meinem Tier erst ein, wenn das Glykokoll zur Entgiftung nicht mehr ausreichte, und größere Mengen freier Benzoesäure im Körper kreisten. (15 g Benzoesäure werden nach Weiskes Versuchen vollständig in Hippursäure übergeführt und ohne jede Störung ertragen.)

Damit steht wohl zum Teil die verschieden reichliche Bildung des Körpers bei verschiedenen Tieren in Beziehung; wir setzen dabei voraus, daß es sich beim Kaninchen und Hund um die gleiche Benzoylglucuronsäure handelt wie beim Hammel.

Das Kaninchen, dessen Harn selten und auch dann nur schwach rechtsdreht, bildet offenbar wenig davon, sein Hippursäurebildungsvermögen ist noch stärker als das des Hammels (pro Kaninchen bis 1,7 und 1,8 g Hippursäure pro Kilo am Tage, beim Hammel pro Kilo im Maximum meiner Versuche 0,9 g). Der Hund produziert am wenigsten Hippursäure; die Erwartung, daß er gewöhnlich viel Benzoesäureglucuronsäure bilde, trifft aber nicht zu. Nur in einem Versuche (Nr. III) von Brugsch und Hirsch betrug die Rechtsdrehung des Harns nach Eingabe von 10 g 1,6° entsprechend einem Gehalt von fast 1,8% gepaarter Säure. Da die Harnmenge nicht angegeben ist, bleibt die absolute Menge des reduzierenden Körpers unbekannt. Aus den Daten der Versuche I und II berechne ich eine Maximalausscheidung von 1,5 der gepaarten

---

[1]) Bei jeder 3—4 tägigen Fütterung mit 30—40 g verlor der Hammel 4—6 kg an Gewicht; er braucht zur völligen Erholung 3 Wochen.

Säure[1]) nach 8,2 g Benzoesäure. Meist aber dreht der Hundeharn doch nur schwach rechts (bei Siebert sogar links); der Hund liefert also zumeist nicht viel Benzoylglucuronsäure. Für das ungleiche Verhalten verschiedener Species ist also das verschiedene Vermögen, die Benzoesäure durch Glykokoll zu entgiften, nicht allein maßgebend. Auch reagieren bekanntlich verschiedene Tiere der gleichen Art verschieden[2]); für den Hammel kann ich allerdings keine Angaben machen, da ich mich auf die Untersuchung eines einzigen Tieres beschränkt habe.

Darstellung der Säure.

Die Darstellung aus dem Urin scheint leicht zu sein, da nur bekannte einfache Trennungsmethoden zur Anwendung kommen. Die Gewinnung beruht auf der Zerlegung des Bleiessigniederschlags mit H_2S, Ausziehen der freien Benzoesäure im Filtrat durch Petroläther und Abtrennung der Hippursäure durch fraktionierte Behandlung mit Äther. Man erhält so die Säure in einer wässerigen Lösung, aus der sie mit Strychnin in krystallinischer Form dargestellt werden kann.

Tatsächlich sind die Schwierigkeiten sehr groß. Sie liegen vor allem in der außerordentlichen Zersetzlichkeit des Körpers. Ich bin erst zum Ziel gekommen, nachdem ich von vornherein sämtliche Mineralsäuren entfernt habe, und als ich die zahlreichen notwendigen Einengungen der Lösungen im Vakuum unter 50° vornahm. Das ist ausnahmslos, auch wo es in der folgenden Beschreibung nicht ausdrücklich vermerkt ist, geschehen. Die zweite Schwierigkeit besteht in der Trennung von der Hippursäure, die nur auf umständlichem Wege zu erreichen ist.

Der Körper geht aus dem angesäuerten Harn in Alkohol-Äther und auch in Essigäther über. Zur Darstellung ist das nicht zu benutzen, da im ersten Fall Mineralsäuren in den Alkohol-Äther übertreten, im zweiten, auch bei freiwilligem Verdunsten des Essigäthers Essigsäure entsteht, die ebenfalls zerstörend wirkt.

---

[1]) Diese enthält 0,6 gebundene Benzoesäure, erklärt also, im Gegensatz zu Brugschs und Hirschs Annahme, das Benzoesäuredefizit, das in diesen Versuchen 5—6 g betrug, nicht.

[2]) Für den Hund nachgewiesen durch E. Salkowski, Festschr. für E. v. Leyden.

Die Substanz wird in der Konzentration, in der sie im Harn vorkommt, nicht durch Bleiacetat gefällt (in stärkerer Konzentration dagegen zum großen Teil)[1]. Sie findet sich dagegen fast vollständig im Bleiessigniederschlag. Das Filtrat davon reduziert nicht mehr sofort.

Darstellung: Der Harn, der von doppeltkohlensaurem Natron stark alkalisch reagierte, wurde mit Essigsäure so weit angesäuert, bis eine Probe auch nach dem Kochen, d. h. nach Austreibung des CO_2, schwach sauer oder neutral blieb. Die Ansäuerung erfolgt am besten in jeder Halbtagsportion, um Zersetzung zu vermeiden. Der unter Toluol[2]) aufgefangene Harn von 3—4 Tagen wird nunmehr in einem großen, auf $^1/_4$ l geeichten Gefäß zuerst mit essigsaurem Baryt, dann mit neutralem Bleiacetat vollständig ausgefüllt, nach 24 Stunden in einer Probe der noch verbleibende Salzsäuregehalt ermittelt, und die Reste dieser Säure mit der berechneten Menge $AgNO_3$ genau ausgefällt. Zwischen den 3 Ausfällungen wird nicht filtriert. Erst nach Absetzung der Silberfällung wird scharf abgenutscht, 2—3mal mit wenig Wasser gewaschen. Das Filtrat ist so gut wie frei von Mineralsäuren. Es wird mit Bleiessig vollständig ausgefällt, der massige Niederschlag auf einer Nutsche 6—10mal mit viel Wasser gewaschen, bis das Waschwasser nur noch ganz geringe Mengen Blei enthält.

Der Bleiessig-Niederschlag wird in einer großen Pulverflasche mit Glasstopfen auf der Schüttelmaschine zerkleinert, dann unter Benutzung eines mechanischen Rührers durch Schwefelwasserstoff zersetzt, vom Schwefelblei abgesaugt. Es empfiehlt sich, den abgesaugten Niederschlag noch einmal mit H_2S zu behandeln. Das klare Filtrat wird auf H_2SO_4, herrührend von einer Oxydation des H_2S beim Filtrieren, geprüft, eventuell entsprechende Menge Barytwasser zugegeben.

Das Filtrat enthält neben kleinen Quantitäten anderer Stoffe als Hauptbestandteile Hippur- und Benzoesäure (die ja zum größten Teil in den Bleiessigniederschlag eingehen), und zwar in

---

[1]) Das gleiche ist ja auch bei vielen anderen Stoffen der Fall (z. B. bei der Hippursäure, der Benzoesäure usw.).

[2]) Nachdem die unmittelbare Reduktion des Harns beim Erwärmen mit Fehlingscher Lösung außer Zweifel gestellt worden war, wurde dem Harn auch noch $CHCl_3$ zugefügt.

sehr großen Mengen, da in jeder Fütterungsreihe über 100 g Benzoesäure verabreicht worden waren, daneben an Menge hinter den beiden anderen Stoffen zurückstehend, die gesuchte Verbindung. Die 3—4 l Filtrat werden im Vakuum unter 40° auf $^1/_2$—$^3/_4$ l eingeengt; es fallen, da die gepaarte Glucuronsäure die anderen Körper in Lösung hält, nur geringe Mengen Benzoe- und Hippursäure aus. Sie werden abfiltriert.

Das Filtrat wird so oft mit Petroläther geschüttelt, bis diese keine Benzoesäure mehr aufnimmt.

Eine Trennung der nunmehr als Hauptbestandteile in der Lösung vorhandenen Hippursäure von der gesuchten Substanz war durch kein Metallsalz (Quecksilber, Baryt, Blei, Kupfer, Eisensalze) zu erreichen, da beide Säuren gleichmäßig in die etwa entstehenden Niederschläge eingehen. — Starke Abkühlung der Lösung schied die Hippursäure nicht aus.

Auch die Ausziehung der Hippursäure mit Äther versagte lange Zeit. Denn, obwohl die reine Benzoylglucuronsäure nicht ätherlöslich ist, geht sie mit der Hippursäure zusammen in großen Mengen in den Äther. Schließlich kam ich auf folgendem Wege durch fraktionierte Ausziehung mit Äther zum Ziel.

Die Extraktion der ca. $^3/_4$ l betragenden wässerigen Lösung wurde in einem großen, kontinuierlich wirkenden Apparat von Zelmanowitz[1]) vorgenommen. Nach 8 Stunden enthielt das Äthergefäß unter der klaren Ätherlösung (1) eine kaum millimeterhohe, wässerig sirupöse Schicht (2). Der Äther (1) wird abgegossen, die (2) wässerige Schicht mit wenig H_2O ausgespült. Sie (2) enthält größere Mengen der Glucuronsäureverbindung, daneben freilich noch Hippursäure. — Der abgegossene Äther (1) hinterläßt beim freiwilligen Verdampfen Hippursäurekrystalle in großer Menge in einer Schmiere; dieser Rückstand wird mit wenig eiskaltem Wasser übergossen, nach einigem Stehen von der Hippursäure abfiltriert. Das Filtrat enthält neben dem reduzierenden Körper noch immer Hippursäure. (Es empfiehlt sich nicht, die ausgeschiedene Hippursäure so lange zu waschen, bis das Waschwasser nicht mehr reduziert, da dazu viel Wasser nötig ist, und dabei zu viel Hippursäure in Lösung geht, sondern nur 1—2mal mit wenig Wasser zu decken.)

---

[1]) Diese Zeitschr. 1, 253, 1906.

Die Ausätherung wird 4—5 Tage fortgesetzt, die Trennung der beiden Schichten (1) und (2) im Äthergefäß und ihre Behandlung in jeder Tagesportion gesondert wie beim erstenmal vorgenommen, zum Schluß die wässerigen Lösungen der wässerigen Schicht (2) mit den wässerigen Lösungen des Ätherrückstandes (1) vereinigt. (Die im Extraktionsgefäß noch vorhandene ursprüngliche, extrahierte Lösung (3) ist nach 4—5 Tagen so gut wie frei von Hippursäure, sie enthält noch reichliche Mengen der reduzierenden Substanz[1]).

Die vereinigten wässerigen Lösungen von 1 und 2 kommen nun zusammen von neuem in den Ätherextraktionsapparat und werden in der oben beschriebenen Weise abermals 4—5 Tage fraktioniert ausgeäthert. Die ätherische und die wässerig-sirupöse Säure im Äthergefäß werden getrennt, und wie oben weiter behandelt, und auf diese Weise weitere Anteile der Hippursäure entfernt. Man erhält so, eventuell nach einer dritten ähnlichen Behandlung, aus dem Ätherauszug schließlich eine hippursäurearme wässerige Lösung der gesuchten Substanz, die man diesmal mit der im Extraktionsapparat verbliebenen fast hippursäurefreien Lösung des reduzierenden Körpers vereinigt.

Es war mir aufgefallen, daß diese wässerige Lösung, obwohl vorher alle Benzoesäure durch Petroläther entfernt worden war, immer wieder kleine Mengen Benzoesäure an Petroläther abgab. Daraufhin wurde eine quantitative Bestimmung der Benzoesäure und der Hippursäure vorgenommen. 10 ccm wurden mit starker Kalilauge gekocht; nach dem Ansäuern gaben sie an Petroläther 120 mg Benzoesäure ab. Andere 10 ccm ergaben nach Kjeldahl 3 mg N; das entspricht $\frac{3 \times 179}{14} = 37$ mg Hippursäure, die 26 mg Benzoesäure enthalten. Es waren also fast 100 mg Benzoesäure in anderer Bindung vorhanden. Damit war, da die Glucuronsäure schon vorher durch Orcinreaktion und Darstellung der Zuckersäure ziemlich sicher nachgewiesen worden war, eine Verbindung zwischen Glucuronsäure und Benzoesäure wahrscheinlich geworden.

---

[1]) Allerdings neben allen den Substanzen, die auch aus dem gewöhnlichen Harn durch Bleiessig gefällt werden und nicht in Äther übergehen. Man kann aus ihr nach Neutralisation, Ausfällung mit Blei und Quecksilberacetat durch Bleiessig noch, unter größeren Verlusten, einen Teil der reduzierenden Substanz in ziemlich reiner Lösung gewinnen.

Es gelang nicht, aus der eben beschriebenen, nur noch wenig verunreinigten Lösung der gesuchten Säure krystallinische Basenverbindungen mit Na, K, NH_4, Ca, Ba oder Cu darzustellen. Die Silberniederschläge waren noch zu unrein und zersetzten sich bei jedem Versuch, sie zu reinigen. Von den Verbindungen mit Alkaloiden krystallisierte das Strychninsalz nach vierwöchigem Stehen. Zur Darstellung größerer Mengen wurde — wieder um Einwirkung höherer Wärmegrade zu vermeiden — der Säuregehalt der wässerigen Lösung titrimetrisch ermittelt die berechnete Menge Strychnin in heißem Alkohol gelöst und nach mäßigem Abkühlen zu der Lösung der Säure gegossen. Starkes Einengen im Vakuum bis zur Entfernung des Alkohols, 2—3maliges Ausschütteln mit Chloroform, das etwas Strychnin aufnimmt; erneutes Einengen im H_2SO_4-Exsiccator, Impfen mit vorrätigen Krystallen. Nach 24 Stunden wird der Krystallbrei abgesaugt, mit wenig H_2O gewaschen. Das 2—3malige Umkrystallisieren zuerst aus H_2O, dann aus größerer Menge 60—80prozentigem Alkohol muß ebenfalls bei gelinder Wärme vorgenommen werden, die Einengung geschieht im Vakuum. Auch unter diesen Vorsichtsmaßregeln erfolgt immer noch eine, wenn auch geringe Dissoziation des Strychnins und eine Spaltung der Benzoylglucuronsäure. Die Spaltlinge bleiben in der Mutterlauge.

Bei der letzten und erfolgreichsten Darstellung erhielt ich aus 6 l Harn mit einem Gehalt von etwa 60 g der gesuchten Säure etwa 12 g der reinen Strychninverbindung, d. h. eine Ausbeute von 10% der Säure. Im ganzen hatte ich 16 g reines Strychninsalz in Händen.

Benzoylglucuronsaures Strychnin.

$$C_{34}H_{36}N_2O_{10} + 2\ (?)\ H_2O.$$

Schöne weiße Krystalle in gut ausgebildeten rhombischen Säulen und Platten. Schmelzpunkt unter Zersetzung bei 162° (unkorrigiert). Die Krystalle sind in kaltem Wasser, Alkohol, Chloroform schwer, in diesen 3 Mitteln in der Hitze leicht löslich.

H_2O-Gehalt: Die Substanz kann nur schwierig im Vakuum über H_2SO_4 bei 100° zur Gewichtskonstanz gebracht werden. Im Mittel von 5 Analysen gab sie 8,59% H_2O ab, was 3 Mol. H_2O (8,10%) entspircht. Wahrscheinlich enthält sie aber nur 2 Mol.

Krystallwasser und findet bei jener Temperatur Austritt von noch einem Mol. H_2O aus der Substanz selber statt. Sämtliche C-, H- und N-Analysen an der so getrockneten Substanz ergaben nämlich, obwohl die Substanz wegen der auffallenden Ergebnisse zu jeder Analyse von neuem umkrystallisiert wurde, Werte, die nur auf die Formel $C_{34}H_{36}N_2O_{10} - H_2O$ stimmten (Zersetzung in ein Molekül benzoesaures Strychnin und 1 Mol. Glucuronsäureanhydrid?).

0,1748 = 0,4295 CO_2 + 0,0912 H_2O = 66,45% C + 5,77% H
0,1450 = 0,3520 CO_2 + 0,0771 H_2O = 66,21% C + 5,90% H
0,1455 = 0,3505 CO_2 + 0,0766 H_2O = 66,16% C + 5,89% H
Mittel = 66,27% C + 5,85% H

4 N-Analysen nach Dumas ergaben 4,66, 5,00, 4,83, 4,92, im Mittel 4,85% N.

Berechnet für		Gefunden
$C_{34}H_{36}N_2O_{10}$	$C_{34}H_{36}N_2O_{10} - 1\ H_2O$	
64.56	66,45	66,27 C
5,70	5,53	5,85 H
4,43	4,56	4,85 N
(25,31)	(23,45)	(23,03) O (Rest)
100,00	99,99	100,00

0,4082 g lufttrockener Substanz (entsprechend 0,3862 im krystallwasserfreien Zustand) liefern bei der Spaltung mit Kalilauge und Extraktion mit Petroläther nach Ansäuerung 71,5 mg, Benzoesäure entsprechend 18,5%; berechnet 19,2%.

Benzoylglucuronsaures Natron.

$C_{13}N_{13}O_8Na$. Mol.-Gew. = 320.

12,5 g Strychninsalz werden in 400 ccm H_2O gelöst, mit der berechneten Menge $^1/_5$ Normalnatronlauge versetzt, nach einigem Stehen vom ausgeschiedenen Strychnin scharf abgesaugt, das Filtrat mit $CHCl_3$ bis zur vollständigen Befreiung vom Strychnin ausgeschüttelt. Die Lösung wird dabei schwach sauer. Einengung im Exsiccator bei gewöhnlicher Temperatur bis zur Sirupdicke. Der Sirup enthält einige Krystalle eines Natronsalzes, kann aber nicht in größerer Menge zur Krystallisation gebracht werden.

Er wird daher in 15 ccm H_2O gelöst, und sukzessive mit Alkohol, Alcohol absolutus und Äther gefällt. Nach Abtrennung einer ersten schmierigen, übrigens spärlichen Fällung, werden so nacheinander 4 gleichartige Portionen eines schneeweißen, lockeren Niederschlags gewonnen, der keine deutlichen Krystallformen zeigt. Die Niederschläge werden auf einem mit Uhrglas bedeckten Trichter auf Hartfilter mit absolutem Alkohol und absolutem, über Na getrocknetem Äther gewaschen und sofort ins Vakuum über H_2SO_4 gebracht. Nach 24 Stunden ist der Niederschlag gut pulverisierbar und nicht mehr besonders hygroskopisch (erst bei längerem Stehen an feuchter Luft ist er etwas zerfließlich).

Beim Trocknen bei 105° C verliert er Spuren (2%) H_2O. Die Analyse der bei 105° C getrockneten Substanz gab:

Na (als Na_2SO_4) gewogen	7,37% Na
C	47,85% C
H	4,36% H
nach einmaliger Umfällung	48,00% C
	4,44% H

Gefunden:		Ber. für $C_{13}H_{13}O_8Na$:
I	II	
47,85	48,00% C	48,75
4,36	4,44% H	4,06
7,37	% Na	7,19

Die zu niedrigen Werte für den C beruhen wahrscheinlich auf Zurückhaltung kleiner Mengen CO_2 durch das Na, trotzdem daß die Verbrennung mit Bleichromat und Kaliumbichromat erfolgte.

Spezifische Drehung des Natriumsalzes:

0,335 lufttrockene = 0,325 wasserfreie Substanz (der H_2O-Gehalt wurde in einer zweiten Probe bestimmt) werden in einem graduierten Kölbchen mit H_2O zu 10 ccm aufgefüllt. Diese 3,25% Lösung dreht in einer 2 dcm-Röhre bei 18° C im Halbschattenapparat bei Na-Licht + 2,85°.

$$\text{Daraus } \alpha\,[D]^{20^0\,C} = \frac{2{,}85 \cdot 100}{2 \cdot 325} = +\,43{,}86^0.$$

Die Drehung mußte auch für den Soleil-Ventzke-Apparat mit Quarzkeilkompensation bestimmt, da sämtliche Bestimmungen

der Urindrehung von mir (wie auch sonst in biologischen Laboratorien) im Traubenzuckerrohr gemacht und in Traubenzuckerprozenten ausgedrückt worden waren. Die Drehung obiger Lösung betrug im weißen Licht + 2,77° Traubenzuckerprozente. Die Drehung einer 100 prozentigen Lösung ist also $= \frac{2,77}{3,25} = 85,3$ Traubenzuckerprozenten.

1% Rechtsdrehung im Traubenzucker-Apparat mit Quarzkeilen bedeutet also einen Gehalt von 100 : 85,3 = 1,17% Natriumsalz. Das entspricht (da 320 Natriumsalz = 298 Säure = 122 gebundener Benzoesäure sind) $\frac{1,17 \cdot 298}{320} = 1,09\%$ der Benzoylglucuronsäure und $\frac{1,17 \cdot 122}{320} = 0,446\%$ gebundener Benzoesäure.

Die Benzoylglucuronsäure.

Eine Krystallisation der freien Säure ist bisher nicht gelungen; daß die wässerigen Lösungen gleichfalls sehr stark rechts drehen, ist bereits oben erwähnt worden. Auch bei Zusatz von 5—10% Schwefelsäure bleibt starke Rechtsdrehung bestehen. Darin besteht also ein Gegensatz zu dem Verhalten der Dimethylaminobenzoesäure Jaffés, die in mineralsaurer Lösung deutlich links drehte. Fünfstündiges Erhitzen der schwefelsauren Lösung vermindert die Drehung um fast die Hälfte. Die Lösung der Säure oder ihres Natronsalzes in Wasser schmeckt nicht süß.

Die Benzoylglucuronsäure enthält 1 Mol. Benzoesäure; das ist an ihrem Strychninsalz nachgewiesen worden (s. oben S. 000). Daß der andere Paarling eine Glucuronsäure ist, geht mit genügender Wahrscheinlichkeit aus den Analysen hervor, die für den Paarling die Formel

$$C_6H_{10}O_7 = C_{13}H_{14}O_8 - C_6H_5\,COOH + H_2O$$

beweisen. Es spricht dafür die starke Orcinreaktion und die Gewinnung von reichlichen Mengen zuckersauren Kalkes und zuckersauren Kalis durch Oxydation einer freilich nicht ganz reinen Lösung meines Körpers. Ich fand in den zwei Salzen

15,75% Ca	ber. 16,13% Ca
15,75% K	„ 15,72% K.

Der direkte Nachweis der Glucuronsäure durch Darstellung des Cinchoninsalzes oder der Bromphenylhydrazins ist nach diesen Daten wohl kaum mehr nötig.

Ich hoffe später noch direkte zahlenmäßige Angaben über die leichte Zersetzlichkeit der Säure durch Alkalien und Mineralsäuren und über die Einwirkung höherer Wärmegrade in neutraler Lösung zu bringen, und, wenn das Material ausreicht, weitere Verbindungen darzustellen. Auch ohne genaue Angaben geht die geringe Festigkeit der Verbindung schon aus der Beschreibung der Darstellung zur Genüge hervor. Nur das eine soll erwähnt werden, daß Einwirkung von schwacher Natriumbicarbonatlösung jedenfalls in einigen Stunden keine vollständige Zerstörung bewirke, zum mindesten nicht bei Anwesenheit großer Mengen organischer Stoffe. Anderenfalls hätte ich aus dem Harne, der immer eine Reihe von Stunden bis zur Ansäuerung stark alkalisch reagierte, die Säure nicht darstellen können.

Nachweis der Benzoylglucuronsäure im Harn.

Ihre Anwesenheit im Harn ist wahrscheinlich, wenn nach Benzoesäurefütterung der Harn stark rechts dreht, reduziert, ein Osazon gibt und nicht gärt. Die Reindarstellung wird, wenn nicht bessere Methoden gefunden werden sollten, nur bei Inangriffnahme größerer Harnmengen gelingen. Sonst wird man sich damit begnügen müssen, den Harn mit Bleiessig zu fällen, diesen mit H_2S zu zerlegen, ihn durch Petroläther, Benzol oder Toluol vollständig von Benzoesäure zu befreien und nach fraktionierter Behandlung mit Äther, wie sie oben geschildert wurde, eine Lösung zu gewinnen, die wesentlich mehr gebundene Benzoesäure enthält, als der in der Lösung befindlichen Hippursäure entspricht. Die Maximalmenge der Hippursäure kann durch Analyse des N-Gehaltes der Lösung ermittelt werden. Diese Beweisführung gilt freilich nur so lange, als nicht noch neue gepaarte Benzoesäureverbindungen gefunden sein werden.

Brugsch und Hirsch geben an, daß Alkohol aus dem zur Sirupdicke eingedampften Harn in ihren Versuchen alle Hippur- und freie Benzoesäure, dagegen nur Spuren der reduzierenden Substanz aufgenommen hätte; deren Hauptmenge sei in dem

Rückstand geblieben. Das würde den Nachweis und auch die Darstellung erleichtern. Im Hammelharn ist mir eine derartige Scheidung nicht gelungen. Ihr Erfolg hängt sicher von vielen Einzelheiten ab: der Reaktion, der Konsistenz des Harnsirups, An- oder Abwesenheit größerer Mengen von Kalk und Magnesia darin, ferner von der Stärke des angewandten Alkohols und der Intensität seiner Einwirkung auf den Harnsirup (Auskneten des Rückstandes, Einwirkung des Alkohols in der Wärme oder bei gewöhnlicher Temperatur). — Wenn man aber wirklich in einem derartigen Alkoholrückstand eines Harnsirups Rechtsdrehung, Reduktion und reichlichen Gehalt an gebundener Benzoesäure findet, wird man sich noch jedesmal besonders davon überzeugen müssen, ob der Alkoholrückstand wirklich frei von Benzoe- und Hippursäure ist. Diese gewöhnlich gemachte Angabe trifft nicht immer zu, verlangt demnach im einzelnen Fall und namentlich in diesem eine eigene Bestätigung.

Bestimmung der Gesamtbenzoesäure im Harn.

Benzoe- und Hippursäure werden von den meisten Autoren, mit kleinen Abweichungen im einzelnen, als freie und gebundene Benzoesäure bestimmt und dann addiert. Ist Benzoylglucuronsäure im Harn, so kann die Bestimmung beider genannten Säuren falsch werden, da diese dritte Säure bei Vorhandensein großer Mengen der beiden anderen mit in den Äther eingeht (Essigäther extrahiert sie sogar nahezu vollständig.) Die Benzoylglucuronsäure wird dabei zum Teil, soweit sie sich schon (durch die Mineralsäuren usw.) zersetzt hat, bei der Behandlung mit Petroläther als freie Benzoesäure mitbestimmt, zum Teil nach dem Kochen mit Laugen oder Säuren als gebundene auf die Hippursäure umgerechnet.

Der darin liegende Fehler kann in den Urinen, die reich an Hippur- und Benzoesäuren sind — und nur in solchen findet sich die Benzoylglucuronsäure — durch ein in der folgenden Arbeit beschriebenes Verfahren vermieden oder doch sehr verkleinert werden. Es beruht darauf, daß man den größten Teil der Hippur- und Benzoesäure (a) aus dem auf $^1/_4$—$^1/_6$, jedenfalls noch nicht zum dünnen Sirup, eingeengten Urin mit kleinen Mengen Schwefelsäure fällt und nach Waschen und Trocknen zur Wägung bringt.

Dieser Teil, der bei genügender Waschung keine Benzoylglucuronsäure enthält, wird dann in üblicher Weise in Benzoe- und Hippursäure zerlegt.

Das Filtrat vom Niederschlag enthält dann relativ kleine Mengen Benzoe- und Hippursäure (b), die nur wenig Benzoylglucuronsäure bei der Extraktion in den Äther überführen. Diese kleinen Anteile kann man noch zum Teil dadurch entfernen, daß man jede abgehobene Ätherportion mit ganz kleinen Mengen Wasser wäscht, die selbstverständlich dann zu dem Harn im Extraktionsgefäß zurückgegeben und mit ihm weiter extrahiert werden müssen. Im Ätherextrakt ist dann so gut wie keine oder nur wenig Benzoylglucuronsäure, so daß die darin vorhandene gebundene Benzoesöure ohne zu großen Fehler auf Hippursäure bezogen werden kann. Die „freie Benzoesäure" des Ätherextraktes freilich entspricht wahrscheinlich nicht in ihrem ganzen Betrag ursprünglich freier Säure; denn bei der langen Dauer der Extraktion des Mineralsäure enthaltenden Harns werden gewisse Mengen von Benzoesäure aus der Glucuronsäureverbindung frei und vom Äther gelöst. Dieser Fehler in der Bestimmung der freien Benzoesäure ist vorläufig nicht zu vermeiden; er ist aber prinzipiell nicht so wichtig wie Mängel der Hippursäurewerte, und diese werden bei diesem Verfahren annähernd richtig bestimmt. Der Hauptvorteil ist, daß 80—90% der Hippursäure als solche gewogen, und nicht indirekt bestimmt werden.

Wollte man zu den so bestimmten Quantitäten freier und Hippursäure-Benzoesäure die der Benzoesäure aus Glucuronsäure nach dem Polarisationswert hinzurechnen, so würde die Gesamtbenzoesäure etwas zu hoch ausfallen, da die Benzoesäure der Glucuronsäureverbindung zum Teil zweimal bestimmt wäre. Zur Analyse der Gesamtbenzoesäure ist am besten ein Verfahren zu wählen, das alle drei Formen zusammen bestimmt, und das auch da von Wert ist, wo wie zumeist nur Benzoe- und Hippursäure anwesend sind. Mir scheint — ohne daß ich es freilich selber geprüft hätte — die von Pfeiffer, Riecke und Bloch[1]) angegebene Methode nach Einfachheit und Sicherheit große Vorzüge aufzuweisen. Sie beruht in Kürze darauf, daß die Spaltung der ge-

[1]) Mitteilungen a. d. landwirtschaftl. Versuchsstationen zu Breslau 2, 695, 1904.

bundenen Benzoesäure im Harn selber durch Kochen bei einem Gehalt von 50% H_2SO_4[1]) vorgenommen und die ganze Benzoesäure unter Erhaltung dieser Konzentration abdestilliert wird. Einzelheiten müssen im Original nachgelesen werden. Die fehlenden Kontrollanalysen (mit abgewogenen Mengen zu hippursäurefreiem Urin zugegebener Hippursäure) müßten allerdings noch angestellt werden, um die Zuverlässigkeit sicher zu beweisen. In jedem einzelnen Fall müßte auf Vollständigkeit der Spaltung und der Übertreibung der Benzoesäure geprüft werden.

---

[1]) Der erst bei der Destillation erreicht wird, dann aber bei fortdauernder Destillation durch entsprechende Zugabe von Wasser aufrecht erhalten werden muß.

Über die Neubildung von Glykokoll.

Studien zur Hippursäurefrage.

Von

Adolf Magnus-Levy.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Institut. der Universität zu Berlin.)

(Eingegangen am 28. September 1907.)

Die hydrolytische Zerlegung des Eiweißes hat uns als chemische Bausteine eine Anzahl von Aminosäuren[1]) kennen gelehrt. Man denkt sie sich in dem großen Verband „präformiert" vorhanden. Auch in physiologischer Hinsicht können wir sie als Bausteine des Eiweißes ansehen, da ja der Aufbau von Körpereiweiß aus gespaltenem Nahrungseiweiß durch Zusammenfügung dieser Elemente (Peptide) erfolgt[2]). Wir begegnen diesen einfachsten Körper vielfach auch beim Abbau von Eiweiß im Organismus, entweder in unveränderter Gestalt oder in einer Form, die die Beziehungen zu dem ursprünglichen Aminokörper ohne weiteres erkennen läßt[3]).

---

[1]) Mono-Di-Polyaminosäuren und einige etwas abweichende Verbindungen wie das Glucosamin. — Trotzdem auch Körper ohne Säurecharakter unter den Spaltlingen des Eiweißes vorkommen, bezeichnet man sie oft in ihrer Gesamtheit als Aminosäuren.

[2]) Wir sehen hier davon ab, daß die Zerlegung des Eiweißes im Darm zum Teil bei der Bildung von Di- und Polypeptiden stehen bleibt, und daß diese vielleicht zum Aufbau von Körpereiweiß nötig sind. — Prinzipiell ist kein Unterschied zwischen der Anfügung von Mono- an Polypeptide, z. B. eines Leucins an die Alanylgruppe eines Tetrapeptids, und der von Peptid zu Peptid (Leucin zu Alanin). Selbst wenn eine Zellart, etwa das Darmepithel, zu einer bestimmten Synthese nicht imstande sein sollte, könnten andere Zellen die Fähigkeit doch besitzen.

[3]) Im normalen Stoffwechsel finden wir Glykokoll, Taurin (Cystein!), im pathologischen Leucin, Lysin, Asparaginsäure, Tyrosin, Homogentisinsäure (Phenylalanin und Tyrosin) u. a. teils in Se- und Exkreten, teils im Blut usw.

Eine der wesentlichsten Fragen der Stoffwechselphysiologie ist es, ob der Eiweißabbau sich nur über diese, nach Art und Menge unveränderlichen Bausteine vollzieht oder nicht. Kann der Organismus ein bestimmtes Eiweiß immer nur hydrolytisch in der gleichen Art (zu der gleichen Menge von Aminosäuren) spalten, oder findet die Zerlegung des großen Komplexes auch anders statt als bei der hydrolytischen Zersetzung durch Säuren und Fermente? Dann würden die bekannten Bausteine entweder in anderer Menge erscheinen, oder es könnten daneben noch weitere unbekannte Körper auftreten. Die oben berührte Frage, die eine große Zahl einzelner Probleme enthält, kann hier nur in ihren allgemeinen Umrissen gestellt werden. Ihre Beantwortung ist wichtig, ebensowohl für unsere Anschauungen über den Aufbau von Eiweiß im Organismus wie für dessen Abbau. Für den Aufbau ist das nach folgender Richtung der Fall: Erfolgt die Spaltung stets nur nach dem bisher bekannten hydrolytischen Prinzip, und ist eine Umwandlung einer Aminosäure in eine andere unmöglich, dann sind der Umwandlung einer Eiweißart in eine andere bestimmte durch die Mengenverhältnisse ihrer Bausteine gegebene Grenzen gezogen. Enthalten z. B. 100 g Nahrungsprotein 10 g Leucin, 100 g Körpereiweiß aber 20 g davon, so können aus 100 g des ersten höchstens 50 g des zweiten entstehen. Anders dagegen, wenn die Zerlegung oder die Umwandlung im Körper aus den 100 g des ersten Proteins 20 g Leucin zu bilden vermag[1]).

Da es sich um eines der verwickeltsten Probleme der ganzen chemischen Physiologie handelt, wird man zunächst zufrieden sein müssen, wenn es gelingt, eine der darin enthaltenen Teilfragen mit Sicherheit zu beantworten. Die folgende Arbeit beschäftigt sich mit einer solchen, mit dem Thema: Kann eine Aminosäure im Körper neu gebildet werden, d. h. in größeren Mengen auftreten, als nach der bisherigen Auffassung „präformiert" darin enthalten sind.

Für gewisse Körper muß diese Frage sehr wahrscheinlich mit Ja beantwortet werden. Phenylalanin und Tyrosin, und

---

[1]) Vgl. Magnus-Levy, Physiologie des Stoffwechsels. Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von C. von Noorden 1, 75, 1906.

ebenso Serin und Alanin, stehen einander so nahe, daß man die Möglichkeit ihrer Umwandlung ineinander im Körper von vornherein zugeben wird. Ersatz eines Hydroxyds durch ein Wasserstoffatom und umgekehrt sind leicht möglich. Diese einfachen Verhältnisse sind hier nicht zu berücksichtigen.

Wir haben uns nur mit der Frage zu beschäftigen, ob eine Neubildung irgend einer Aminosäure aus dem Material anderer Bausteine erfolgen kann, die nach Zahl und Anordnung der C-Atome von ihr wesentlich abweichen. Eine Entstehung von Aminosäuren mit längerer Kohlenstoffkette aus dem Material anderer mit weniger C-Atomen wird man zunächst als unwahrscheinlich außer acht lassen können, und sich vielmehr nach dem umgekehrten Vorkommen umsehen müssen.

Das Glykokoll ist die einzige Substanz, an der sich die Frage bisher studieren läßt.

Bei Benzoesäurefütterung treten sehr große Mengen (Benzoyl-) Glykokoll (Hippursäure) im Harn des Pflanzenfressers auf. Bestimmt man gleichzeitig den Eiweißumsatz (N im Urin), so kann man berechnen, wieviel Glykokoll aus dem Eiweiß entstanden ist. Die Menge des präformierten Glykokolls ist für eine Reihe von Eiweißarten bekannt. Sie geht, mit Ausnahme des Gehalts im Leim, nicht über 4% heraus. Da Eiweiß durchschnittlich 16%, das Glykokoll 18,7% N enthält, treffen auf 100 Eiweiß N $\frac{100}{16} \cdot 18{,}7 \cdot 4 = 4{,}7$, also weniger als 5% Glykokoll-N. Ergibt sich im Benzoesäureversuch ein sehr viel höherer Wert für den Quotienten (Glykokoll-N : Gesamt-N), dann ist eine Neubildung von Glykokoll, eine Herkunft aus Nichtglykokoll, erwiesen.

R. Cohn[1]) ist in seinen Arbeiten an dieser, gerade ihm naheliegenden Überlegung vorbeigegangen. Parker und Lusk[2]) haben die Frage zuerst gestellt und sie experimentell studiert. In ihren Versuchen wurde nicht mehr (Benzoyl) Glykokoll ausgeschieden, als in dem zersetzten Eiweiß vorgebildet war (ca. 4%).

Unabhängig voneinander sind dann Wiechowsky und ich

---

[1]) R. Cohn, Festschrift für Jaffé, Braunschweig. S. 321.

[2]) Parker und Lusk, Amer. Journ. of Physiol. 3, 472, zit. n. Maly **1900**, 713.

zu dem entgegengesetzten Resultat gekommen[1]). Wiechowsky fand bis zu 21%[2]), ich bis zu 28% des am Tage ausgeschiedenen Harnstickstoffs in dem Glykokoll der ausgeschiedenen Hippursäure. Diese Zahlen sind entscheidend.

Im Körper kann mehr Glykokoll entstehen, als in dem zersetzten Eiweiß präformiert enthalten ist.

Woher stammt dieses? Etwas Glykokoll könnte, worauf verschiedene Autoren hingewiesen haben, aus dem Purinkern auf oxydativem Wege entstehen[3]). Die in Betracht kommende Menge aber ist, absolut wie relativ, so gering, daß sie gegenüber den bei Benzoesäurevergiftung gebildeten keine Rolle spielt. R. Cohn[4]) hat auf eine weitere Möglichkeit hingewiesen, auf eine Synthese aus Essigsäure und NH_3. Seine Versuche, diese Synthese durch Experimente wahrscheinlich zu machen, tragen nichts Überzeugendes an sich. Fände eine solche Synthese statt, dann fiele freilich alle Erörterung über die Herkunft des Glykokolls fort. Wir halten sie für unbewiesen und, als mit allen heutigen Kenntnissen vom tierischen Stoffwechsel in Widerspruch stehend, für unwahrscheinlich.

Somit müssen wir vorderhand das Glykokoll aus Eiweiß durch Spaltung und oxydative Prozesse herleiten.

Neubildung von Glykokoll im normalen Stoffwechsel ohne Mitwirkung von Benzoesäure.

Wiechowsky[5]) schließt aus seinen Versuchen, „daß das Glykokoll beim Kaninchen Vorstufe eines großen (wenn nicht

---

[1]) Wiechowsky, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **7**, 204ff., 1905/06. — Magnus-Levy, Herkunft des Glykokolls in der Hippursäure, Münch. med. Wochenschr. **1905**, Nr. 45. Diese vorläufige Mitteilung wurde veranlaßt durch das Erscheinen von Wiechowskys Arbeit. Die Unabhängigkeit meiner Experimente und Darlegungen von denen Wiechowskys, mit denen sie vielfach übereinstimmten, geht zur Genüge daraus hervor, daß ich in der vorläufigen Mitteilung bereits weitere Experimente (über das Schicksal benzoylierter Aminosäuren) mitgeteilt habe, die die Prüfung der aus meinen Ergebnissen folgenden Konsequenzen zum Gegenstand hatten.

[2]) Ich halte Wiechowskys Berechnung, der 50 und 64% angibt, für unrichtig. (Vgl. weiter unten die Darlegung auf S. 537.)

[3]) Auch das wäre eine „Neubildung", da nicht Glykokoll, sondern zunächst eine Kette mit drei C-Atomen bei hydrolytischer Spaltung aus Harnsäure entstehen müßte.

[4]) R. Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. **17**, 310, 1893; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **53**, 435, 1905.

[5]) S. 262 seiner Arbeit.

des größten) Teils des ausgeschiedenen Harnstoffs ist". Gegen seine Berechnung, die ihn zu viel zu hohen Werten für den Quotienten Glykokoll-N : Gesamt-N geführt hat, lassen sich schwere Bedenken geltend machen (s. weiter unten). Aber auch von dieser abgesehen, erscheint uns sein Schluß nicht zulässig. Ich halte es für viel wahrscheinlicher, daß nur die Anwesenheit der Benzoesäure den Abbau des Eiweißes über Glykokoll erzwingt, und daß dieser sonst andere Wege geht. Die Richtigkeit der einen oder der anderen „Ansicht" zu beweisen, fehlt es an experimentellem Material; ich sehe deswegen von einer Erörterung ab.

Statt dessen sei eine Teilfrage dieses Problems besprochen, auf die sich eine bestimmte Antwort geben läßt.

Entsteht überhaupt irgendwo oder irgendwann im normalen, durch Gifte unbeeinflußten Stoffwechsel Glykokoll neu, d. h. aus Stoffen, die nicht Glykokoll sind? Die Frage ist prinzipiell genau mit der gleichen Betrachtung und Rechnung zu lösen, die wir für unser eigentliches Thema benutzt haben; sie ist zu bejahen, wenn wir irgendwo größere Glykokollmengen fassen können, die nicht in dem gleichzeitig zersetzten Eiweiß vorgebildet waren. Für die Glykokollmengen, die in normalen Sekreten ausgeschieden werden, trifft das nicht zu. Im Harn findet sich (neben Benzoylglykokoll) vielleicht freies Glykokoll, in der Galle vieler Tiere wird regelmäßig Glykokoll an Cholalsäure gepaart ausgeschieden. Die Quantität beider Produkte ist indes im Verhältnis zum gesamten N-Umsatz viel zu gering, als daß man sie nicht zwanglos auf präformiertes Glykokoll zurückführen könnte. Der verlangte Nachweis gelingt hier nicht, wohl aber an solchem Glykokoll, das sich im Organismus findet, nämlich beim wachsenden Tier.

Die Gesamteiweißmenge eines Tieres enthält größere Mengen von Glykokoll. Das geht schon aus dem großen Leimgehalt des Körpers hervor, den man auf 15—20% der ganzen Proteinmenge schätzen kann; aus Leim sind aber über 16% Glykokoll dargestellt worden. Direkte Analysen der gesamten Eiweißmasse verschiedener Tiere ergaben denn auch einen Gehalt von mehr als 3% Glykokoll[1]) (Minimalwert). Für das beim wachsenden Tier an-

[1]) Abderhalden, Gigon und Strauß, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 310, 1907.

gesetzte Eiweiß, das sich ja auf alle Organe verteilt, kann die gleiche Glycinmenge angenommen werden. Der Eiweißansatz saugender Tiere erfolgt aber aus einem äußerst glykokollarmen Eiweiß. Das Casein enthält kein Glykokoll oder nur Spuren, Milchalbumin und Gobulin zusammen 0,6%[1]). Da die letzteren nur ca. ein Sechstel des gesamten Milcheiweißes ausmachen, sind darin bisher nur 0,1% Glykokoll nachgewiesen. Rechnen wir selbst 0,3%! Aus 100 g Milcheiweiß mit 0,1—0,3 g Glykokoll können beim Saugkalb (Soxhlet) in gewissen Perioden 78 g Körpereiweiß mit 2,4 g Glykokoll entstehen.

Die gleiche Betrachtung kann für das aus dem Ei ausschlüpfende Hühnchen angestellt werden, da die verschiedenen bisher untersuchten Eiweißkörper des Eiweißes und des Eigelbes kein oder nur wenig Glykokoll enthalten.

Auch im normalen Stoffwechsel ohne Dazwischentreten der Benzoesäure kann somit Glykokoll neu gebildet werden, wenn ein Bedarf dazu vorhanden ist. Man darf aber daraus keineswegs den Schluß ziehen, daß die Verbrennung des Eiweißes zum größten oder auch nur größeren Teile über die Durchgangsstufe des Glykokolls erfolge, daß diese eine Vorstufe des Harnstoffs sei.

Welche chemischen Wege führen vom Eiweiß zum Glykokoll?

Für die Entstehung größerer Mengen Glykokoll aus Eiweiß im Organismus kommen zwei Hauptmöglichkeiten in Betracht, die auch Wiechowsky bespricht.

1. Das Eiweiß liefert im Organismus dieselben Mengen und Arten von Bausteinen (Aminosäuren) wie die künstliche hydrolytische Spaltung; die höheren Aminosäuren würden dann weiter zu Glykokoll oxydiert.

2. Das Eiweiß liefert im Organismus von vornherein nach Art und Menge anderer Produkte, d. h. u. a. Glykokoll in größeren Mengen als im Glase.

Diese zweite Art des Eiweißabbaus als „vitale" schlechthin dem hydrolytischen gegenüberzustellen, geht nicht an, denn auch im Körper wird sicher ein Teil des Eiweißes hydrolytisch

---

[1]) Abderhalden und Hunter, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 404, 1906.

ebenso gespalten wie im Reagensglas. Es gibt auch eine „vitale" hydrolytische Spaltung. Man darf die zweite Art auch nicht als „einen nichthydrolytischen" Abbau bezeichnen, da auch bei ihr die Hydrolyse sicher eine Rolle spielt. Jede spezielle Namengebung hat etwas Mißliches, solange wir die Natur des Vorganges nicht kennen. In Ermanglung einer besseren Wortprägung nenne ich hier der Unterscheidung halber die erste Art die „einfache hydrolytische" Spaltung, die andere den „abweichenden Abbau im Tierkörper".

Wie alle unbekannten Vorgänge, trägt diese von manchen Forschern angenommene abweichende Eiweißspaltung heute einen etwas mystischen Charakter; man wird versuchen müssen, sie dessen zu entkleiden, indem man die in Betracht kommenden Möglichkeiten aufsucht.

Eine der häufigsten Verknüpfungen der chemischen Bausteine im Eiweiß ist die Amidbindung zwischen der Aminogruppe einer und der Carboxylgruppe einer zweiten Aminosäure. Die synthetischen Arbeiten von E. Fischer haben ihre Existenz und ihre weite Verbreitung erwiesen.

$$\begin{array}{l} R_1 - CH\,NH - COOH \\ \qquad\qquad\;\; | \\ \qquad\qquad\; CO - CHNH_2 - R_2 \end{array}$$

Prinzipiell gleichwertig sind Imidbindungen und solche, wo zwei C-Atome durch ein S- oder ein O-Atom verknüpft sind. Direkte (einfache, doppelte oder dreifache) C-Verbindungen zwischen den Alkylradikalen zweier Aminosäuren, die durch einfache Hydrolyse eine der bisher bekannten Aminosäuren liefern, sind nicht gut denkbar.

Man kann sich nicht vorstellen, daß z. B. ein Alanin und ein Leucinmolekül, die durch Säure aus Eiweiß freigemacht werden, vorher etwa eine Diaminodicarbonsäure

$$\begin{array}{l} R_1 - CH - NH_2 - COOH \\ | \\ R_2 - CH - NH \;\; - COOH \end{array}$$

gebildet hätten. Die Alkylradikale aller bisher bei der Säurespaltung erhaltenen gesättigten Aminosäuren (und diese können, soweit es sich um α-Aminosäuren handelt, alle als alkylierte Glykokolle aufgefaßt werden) müssen als untereinander unverknüpft angesehen werden. (Mit anderen Worten: Das Eiweiß

setzt sich zum großen Teil aus Glycyl-glycinverbindungen zusammen, deren Glycylgruppen verschiedene „freie" Alkylreste tragen.)[1])

Daß diese Vorstellung für die Mehrzahl aller Verknüpfungen im Eiweißmolekül gültig sei, wage ich nicht zu behaupten; vielleicht wird sie durch neue Erkenntnisse widerlegt.

Für den Fall ihrer Gültigkeit läßt sich die Entstehung des Glykokolls bei beiden oben bezeichneten Arten der Eiweißspaltung in den wesentlichen Punkten folgendermaßen vorstellen:

1. Bei der einfachen hydrolytischen Eiweißspaltung werden zunächst die Aminosäuren oder alkylierte Glykokolle gebildet:

$$R_1 - CH - NH - COOH$$
$$R_2 - CH - NH - COOH \text{ usw.}$$

Die Oxydation setzt an der Alkylgruppe (R_1) ein und trennt diese (sukzessive oder auf einmal) ab. Es bleibt Glykokoll übrig. Die hydrolytische Spaltung des Eiweißes geht der Oxydation der Alkylgruppe voran.

2. Bei der „abweichenden" zweiten Art des Abbaus muß gleichfalls ein „Fortfall" des Alkylrestes durch Oxydation stattfinden, aber diese erfolgt vor der hydrolytischen Spaltung:

$$\begin{array}{l} COOH - NH \cdot CH_2 - R_1 \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad CO - CH \cdot NH - R_2 \qquad\qquad + xO = \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\quad CO - CH \cdot NH - R_3 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad \text{usw.} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} = CH_2 - NH - COOH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad CO - CH_2NH \\ \qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\quad CO - CH_2NH_2 + yCO_2 + zH_2O \\ = 3CH_2 \cdot NH_2 - COOH + yCO_2 + (z - 3)\, H_2O\,. \end{array}$$

[1]) Das neue, natürliche Tetrapeptid, das Fischer und Abderhalden erhalten haben, setzt sich zusammen aus (2 Mol ?) Glykokoll, Alanin und Tyrosin. Man kann es als ein Monomethyl, Mono-oxyphenylmethyl-Triglycylglycin, bezeichnen, wo die Alkylgruppen natürlich überall am α-Kohlenstoffatom der Glycingruppen sitzen. Die Polymerie ist natürlich abhängig von dem Sitz der Alkylgruppen an einem der Glycine. — In diesem Sinne könnte man das Eiweiß im wesentlichen kurz als ein Polyalkyl — Polyglycid (das noch eine Reihe anderer Bindungen trägt) bezeichnen, wenn die Mehrzahl seiner Bindungen der Glycylglycinbindung entspricht.

In beiden Fällen entstünde somit Glykokoll auf genau dem gleichen Wege, durch oxydative Entfernung der Alkylgruppen und durch hydrolytische Sprengung der Amidbindung an der gleichen Stelle, nur die Reihenfolge beider Prozesse wäre eine verschiedene. Ebenso wäre natürlich, sofern auch Alanin oder andere Aminosäuren aus Kernen mit längerer Kohlenstoffkette entstünde, die Art der Entstehung bei beiden Wegen des Eiweißabbaus nicht verschieden. Beide Arten des Eiweißabbaus würden danach nicht prinzipiell voneinander abweichen.

Die hier erörterte Möglichkeit soll nur heuristischen Zwecken dienen: Die Forscher, die ihre Mängel theoretisch oder experimentell nachweisen können, sollen andere Möglichkeiten zur Diskussion stellen und in ähnlicher Weise durchführen, wie ich es versucht habe. Dann wird die Frage eines „besonderen Eiweißabbaus" im Körper schärfere Gestalt gewinnen und ihren mystischen Charakter verlieren.

Nur das eine sei hier noch einmal betont: Auch die Entstehung von Glykokoll aus nicht präformiertem Glykokoll macht die Annahme eines vom hydrolytischen (auch nur in der Reihenfolge der Prozesse) verschiedenen, besonderen Eiweißabbaus nicht nötig (s. Nr. 1). Das Vorkommen eines solchen soll nicht als unmöglich hingestellt werden, bewiesen ist es meines Erachtens bisher nicht, im Gegensatz zu der einfachen hydrolytischen Spaltung, deren Vorhandensein im Organismus für zahlreiche Fälle sichergestellt ist.

Mitteilung der Versuche.

Ich bringe in dieser ausführlicheren Mitteilung meiner Versuche keine neuen Experimente, da die seinerzeit mitgeteilten für die Beweisführung ausreichen. Doch muß ich die Versuchsbedingungen und Methodik, Ergebnisse und Schlüsse im einzelnen rechtfertigen.

Meine Versuche sind am Kaninchen und am Hammel angestellt. Gegen die Zulässigkeit der Berechnung des Eiweißumsatzes aus dem Harn-N lassen sich zum mindesten bei der üblichen Ernährung Bedenken erheben. Beim Pflanzenfresser erscheinen nach Grün- und Heufütterung recht große Mengen N im Kot,

manchmal beensoviel wie im Harn. Sie gehören nicht ausschließlich unresorbierten Nahrungsstoffen an, teilweise sind sie mehr oder minder weit abgebaute Reste von Eiweiß, das vorher im Körper zerfallen ist und dementsprechend auch Glykokoll hat liefern können. Der Umsatz von „Eiweiß" ist also größer als der Wert, den wir aus dem Harn-N berechnen, der Quotient Glykokoll-N : Gesamt-N würde somit kleiner anzusetzen sein.

Aus diesem Grunde habe ich den einen Versuch mit Benzoesäuredarreichung beim Hammel[1]) im Hunger durchgeführt; dem Kaninchen habe ich Sahne mit der Schlundsonde als einzige Nahrung gegeben[2]). In beiden Fällen ist dann die Menge des Kot-Ns sehr gering.

Man vermeidet damit einen zweiten möglichen Einwand, den, daß das Eiweiß des gewöhnlich verfütterten Grünfutters und des Heus in seiner Zusammensetzung unbekannt ist und möglicherweise große Mengen Glykokoll enthalte; auch läßt sich a priori nicht ganz ausschließen, daß unter den Amidstoffen der Pflanzenrechnung freies Glykokoll enthalten sei. Demgegenüber wird bei Zufuhr von Milcheiweiß nur dieses und Körpereiweiß zersetzt; im Hunger ausschließlich das letztere. Das Milcheiweiß enthält aber nicht mehr als ca. 0,1—0,15% seines Stickstoffs als Glykokoll-N. Der Gehalt des zersetzten Körpereiweißes läßt sich nicht bestimmen, weil dessen Art wie seine Herkunft von verschiedenen Organen uns unbekannt ist. Diesem Mangel unserer Kenntnis kann man, wie wir später sehen werden, durch eine geeignete Überlegung begegnen.

Ich habe meine Versuche stets eine Reihe von Tagen hintereinander durchgeführt. Gegen eintägige Versuche lassen sich noch manche, nicht mit genügender Sicherheit widerlegbare Zweifel geltend machen, die gegenüber langen Versuchen fortfallen.

---

[1]) Gegen den Hammelversuch bei Heufutter treffen die erwähnten Umstände zu.

[2]) Läßt man Kaninchen zuerst hungern, so trinken sie Sahne freiwillig. Sie nahmen dabei zunächst stark an Gewicht ab, hauptsächlich durch Abgabe des Darmballastes, der einen größeren Anteil des Körpergewichtes ausmacht, dann auch durch Eiweiß- und Fettverlust; letzteres namentlich in den eigentlichen Versuchen, wo Nährwert und N-Menge durch die Sonde eingeführter Sahne den Bedarf nicht deckte. Ich benutzte „homogenisierte", d. h. nicht aufrahmende Sahne von Bolle mit 12% Fett.

Methodisches.

Die Benzoesäure wurde als Natronsalz durch die Schlundsonde entweder mit größeren Mengen Wasser oder mit wenig Wasser und Sahne eingegeben. Im Versuch II gab ich Benzamid, in der Erwartung, daß es langsamer resorbiert und weniger giftig sein würde. Seine Einführung durch die Schlundsonde machte Schwierigkeiten, da es auch aus heißer Wasser-Sahnelösung beim Abkühlen auf die zulässigen Wärmegrade wieder zum Teil ausfiel. Die zugeführte Substanz wurde als Benzoesäure berechnet, die Tagesdosis wurde auf zwei- bis dreimal verteilt. Die Kaninchen erhielten nur Sahne, leider zu wenig, nämlich 100 ccm, was ihren Eiweißbedarf nicht deckte. Um den Darm von Grünfutterresten zu entleeren, wurde der Versuch erst nach achttägiger Ernährung mit Sahne begonnen, als die kleinen weißen Kotballen auch nicht die geringste Beimengung pflanzlicher Stoffe mehr enthielten. Dem hungernden Hammel wurde die Benzoesäure am dritten, vierten und fünften Hungertag gegeben. Im ersten Versuch erhielt das Tier neben Heu täglich 5—800 ccm Sahne (mit Schlundsonde). Er nahm am dritten Tag nur noch 500 g Heu, am letzten Tage keines mehr.

Der Urin des Hammels floß durch einen Harnbeutel aus Gummi und einen Gummischlauch in eine mit Toluol und Chloroform beschickte Flasche. Verluste kamen nicht vor. Die Kaninchen saßen in einem Salkowskyschen Käfig. Der Urin wurde nur einzelne Male in Tagesportionen, zumeist in längeren Perioden, analysiert.

Analysenmethoden. N in Doppelanalysen nach Kjeldahl (auch im Kot). Zur Bestimmung der Hippur- und Benzoesäure wählte ich ein Verfahren, das gestattet, die Hippursäure als solche zu wägen, wenigstens zu ihrem größten Teil. Ich nahm jedesmal[1]) größere Urinquantitäten in Arbeit, beim Kaninchen zwei Drittel bis drei Viertel des ganzen Urins einer Periode, beim Hammel 200 ccm. Ich empfehle das von mir geübte Verfahren keineswegs als allgemeine Arbeitsmethode. Ich mußte es wählen,

---

[1]) Die Anwendung großer Urinmengen ist nicht nötig; ich bin so verfahren, nur um die schließlich erhaltene, von Benzoesäure befreite Hippursäure auf Beimengung anderer Stoffe prüfen zu können, was bei Vorliegen größerer Mengen Materiales leichter ist.

um die durch Anwesenheit von Benzoylglucuronsäure entstehenden Fehlerquellen zu vermeiden (vgl. die vorige Arbeit S. 502).

Größere Mengen Harn (2—500 ccm) wurden mit Mononatriumphosphat ganz schwach angesäuert, auf dem Wasserbad (eventuell unter weiterer Zugabe dieses Salzes, wenn die Reaktion wieder ins Alkalische umschlug) auf ein Drittel bis ein Fünftel eingedampft. Zum erkalteten Urin werden einige Kubikzentimeter 20 prozentiger H_2SO_4 zugegeben. Nach 24 Stunden wird die abgeschiedene Hippursäure und Benzoesäure (Portion a) auf einer kleinen Nutsche abgesaugt. Der Niederschlag wird 5—10 mal mit ganz kleinen Mengen eiskalten Wassers gedeckt, das Waschwasser jedesmal erst nach 1—2 Minuten langer Berührung mit dem Niederschlag abgesaugt, bis es kein Chlor und keine Schwefelsäure[1]) mehr enthält. Filtrat und Waschwasser werden vereinigt und weiter behandelt (b).

Der Niederschlag a wird im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet und gewogen. Dann wurde er im Soxhletapparat mit Petroläther vollständig erschöpft, der Petroläther in einer Porzellanschale freiwillig verdampft, der Rückstand mit wenig Petroläther oder Äther in ein kleineres zum Wägen geeignetes Gefäß übergespült. Nach dem freiwilligen Verdampfen und 24 stündigen Stehen im H_2SO_4-Exsiccator (kein Vakuum!) wird die freie Benzoesäure gewogen (a-Benzoesäure). Die Hippursäure ergibt sich aus der Differenz. Beide, die Benzoesäure wie die Hippursäure, sind etwas gefärbt, aber, wovon ich mich fast jedesmal durch Smp. und (bei der Hippursäure) durch N-Bestimmung überzeugte, analysenrein[2]).

Die schwefelsauren Filtrate und Waschwässer (b) vom Niederschlag (a) wurden durch Eintragung von feingepulvertem Ammonsulfat ohne Erwärmen nahezu gesättigt; die amorphen

---

[1]) Nur einmal, als der Niederschlag Krystalle von Manoalkalisulfat enthielt, die sich übrigens sofort makroskopisch verrieten, gelang das Auswaschen nicht. Der Niederschlag mußte in Alkali gelöst und die Fällung wiederholt werden.

[2]) Die Hippursäurerückstände wurden speziell auf Abwesenheit von HCl, H_2SO_4 und H_3PO_4 untersucht; Smp. und N in mehreren, durch fraktionierte Krystallisation erhaltenen Portionen kontrolliert, die in jedem einzelnen Fall erhaltenen Mutterlaugen vereinigt, gereinigt, wieder krystallisiert und so die Abwesenheit irgendwie quantitativ in Betracht kommender anderer Stoffe festgestellt.

Niederschläge, die viel Farbstoff mit sich reißen, werden abfiltriert, sorgfältig mit konzentrierter Ammonsulfatlösung nachgewaschen. Das ca. 200—400 ccm betragende Filtrat wird in irgend einem der vielen, jetzt vorhandenen Ätherextraktionsapparate erschöpft. Das ist in 2 bis höchstens 3×8 Stunden sicher der Fall, wovon man sich aber durch Wechseln des Äthers im Äthergefäß jedesmal überzeugen kann und soll. Der Rückstand vom freiwillig verdunsteten Äther[1]) wird mit Normallauge gelöst, im Schütteltrichter mit H_2SO_4 versetzt und mit Petroläther die freie Benzoesäure (b) extrahiert.

Die Hippursäure (b), die in dem wässerigen Rückstand geblieben war, wird durch Kochen mit starker Kalilauge zerlegt, die freigewordene Benzoesäure nach dem Ansäuern in Petroläther gelöst, gewogen und auf Hippursäure (b) umgerechnet.

Bei dem gewöhnlichen Verfahren, wo nicht erst die Abtrennung der Hauptmenge durch Säurefällung erfolgt, kann ein Teil der „gebundenen Benzoesäure" aus Benzoyl-Glucuronsäure stammen[2]). Denn diese, an sich in Äther unlöslich, geht bei gleichzeitiger Anwesenheit von viel Hippursäure und Benzoesäure in großen Mengen in den Äther. Dieser Fehler ist bei dem von mir angewandten Verfahren klein, da die erste Säurefällung den weitaus größten Teil der Hippur- und Benzoesäure entfernt hatte. So erhielt ich beispielsweise aus 300 ccm Kaninchenharn

a		b	
im Niederschlag (5,94 g)		aus dem Ätherextrakt	
freie Benzoesäure	0,21	freie B.	0,20
Hippursäure	5,73	gebundene B. 0,14 = Hippursäure	0,21

In toto 5,94 Hippursäure und 0,41 freie Benzoesäure

Die geringen Mengen, die aus dem Filtrat b in den Äther eingingen, konnten jedenfalls nur wenig Benzoylglucuronsäure

[1]) Sind größere Mengen Hippursäure und Benzoesäure darin auskrystallisiert, so können diese abfiltriert und nach genügendem Waschen mit dem Niederschlag zusammen behandelt werden.

[2]) Das ist namentlich bei der Extraktion mit Essigäther, die die gepaarte Glucuronsäure leicht löst, zu berücksichtigen. Eine Scheidung der Benzoesäure-Glucuronsäure von der Hippursäure durch Behandeln des Harnsyrups mit Alkohol, wie sie Brugsch und Hirsch durch zufällige Bedingungen glückte, ist für gewöhnlich nicht möglich. (Vgl. die vorige Arbeit.)

mit in den Äther überführen. Von der Summe von 5,94 g „Hippursäure“ waren hier über 90%, in den anderen Versuchen gewöhnlich über 80% wirklich als solche gewogen (und analysiert), nur der Rest aus freigemachter Benzoesäure berechnet worden. In meinen beiden Versuchen am Kaninchen hatte der Harn meiner Erinnerung nach überhaupt nicht stärker reduziert, also überhaupt keine wesentlichen Mengen Benzoesäure-Glucuronsäure enthalten; beim Hammelversuch war sie durch Waschen des Äthers mit Wasser nach Möglichkeit entfernt worden.

Die folgende Tabelle gibt das Hauptergebnis meiner Arbeit wieder. Jeder der vier Versuche stellt eine ununterbrochene Reihe (von 3—12 Tagen) dar. Beide Kaninchen gingen im Lauf von 24 Stunden nach Schluß des Versuches ein.

Versuch	Tage	Benzoesäure eingegeben	Harn-N (a)	Hippursäure (b)	Hippursäure-N (c)	$\frac{c}{a}$	Harn-N aus Casein	Harn-N (b) aus Körpereiweiß	$\frac{c}{b}$	Ernährung	Kot-N	Mittleres Gewicht
1. Kaninchen I[1]	1—3	1,0	0,92	1,12	0,088	**9,5**	0,30	0,62	14%	100 Sahne = 0,43 N	0,13	1400 g (1500 - 1250)
	4—5	0,85	0,595	0,83	0,065	**10,6**	0,30	0,30	22%	100 „ = 0,43	„	
	6—9	1,25	1,04	1,81	0,141	**13,5**	0,36	0,74	21%	116 „ = 0,50	„	
	10—12	2,06	0,82	2,64	0,207	**25,0**	0,30	0,52	40%	100 „ = 0,43	„	
2. Kaninchen II[2]	1—2	1.77	0,74	1,78	0,14	**19%**	0,30	0,44	32%	100 Sahne = 0,43	„	1080 g
	3	2 02	0,52	1,89	0,148	**28%**	0,30	0,22	67%	100 „ = 0,43	„	
3. Hammel	1	30,0	14,99	—	—	--				Heu + Sahne		52 kg
	2—3	40,0	13,23	47,1	3,68	**27,8**				„ „		
	4	50,0	12 92	36,4	2,85	**22,5**				Sahne		
4. Hammel	3	30,0	12,8	28,2	2,20	**17,0**	0		17,0	Hunger		46 kg
	4	30,0	12,3	16,0	1,25	**10,0**	0		10,0	„		
	5	30,0	11,1	13,7	1,07	**9,6**	0		9,0	„		

In allen Versuchen wurden mehr als 9,5% des gesamten Harn-N als Glykokoll-N ausgeschieden. Die dreitägige Schlußperiode von I zeigt einen Durchschnittswert von 25%, der an einigen Tagen anderer Versuche noch überboten wird.

---

[1]) In der vorläufigen Mitteilung sind einige der obigen Zahlen irrig berechnet worden.

[2]) Von den tatsächlichen Analysenwerten (0,88 und 0,67 g N) wurden entsprechend dem wirklich resorbierten Benzamid 0,14 und 0,15 N für die obige Rechnung abgezogen, da dieser Ammoniak-N für die Entstehung von Glykokoll nicht in Frage kommt.

Am beweisendsten sind die Versuche am Kaninchen. 100 g Sahne enthielten 0,43 g N, der Milchkot, wie in dem von 7 Tagen gesammelten Kot festgestellt wurde, 0,13 g N. Resorbiert wurden in den zwei letzten Perioden des Versuches I 0,36 und 0,3 g N aus Milcheiweiß; 0,68 und 0,52 g N stammen aus zersetztem Körpereiweiß. Dies kann unmöglich das ausgeschiedene Glykokoll präformiert enthalten haben, wie die außerordentlich hohen unmöglichen Zahlen im letzten Stab der Tabelle zeigen. Auch folgende Überlegung läßt sich anstellen: Kaninchen I enthielt bei einem Anfangsgewicht von 1500 g allerhöchstens 200 g Eiweiß; darin sind nach Abderhalden, Gigon und Strauß ca. 6,6 g Glykokoll enthalten (diese Zahlen werden sich bei besserer analytischer Methodik wohl noch erhöhen). Das Kaninchen hat aber in der ganzen Reihe über 8,0 g Glykokoll abgegeben, d. h. ebensoviel oder gar mehr, als in seinem Körper präformiert vorhanden gewesen war.

Wiechowsky berechnet für den Quotienten Hippursäure-N : Gesamt-N Werte von 45—55, einmal sogar von 64%. Er bezieht die Hippursäure-N nicht auf den Tages-N, sondern auf ein Drittel davon, d. h. den Harn von 8 Stunden.[1])

Trotz Wiechowskys ausführlicher Begründung dieser Rechnungsweise wird sie vermutlich nirgends anerkannt werden. Verschiedene Abkömmlinge des gleichen Eiweißmoleküls werden ungleich rasch ausgeschieden, so z. B. S und N; im vorliegenden Fall also das Glykokoll schneller als der übrige N, der ja noch erst eine Umwandlung zu Harnstoff erfährt. Eine Berechnung der umgesetzten Eiweißmenge zu Zwecken, wie sie hier vorhanden sind, kann nicht für kleinere Abschnitte als 24 Stunden erfolgen. Wiechowskys Werte müssen auf ein Drittel reduziert werden, auf 15, 17, 18 und 21,4%. Diese Zahlen reichen aber, wie ich ausdrücklich betone, durchaus hin, um Wiechowskys Schluß zu rechtfertigen, daß „der vitale Eiweißzerfall beim (Kaninchen) weitaus mehr Glykokoll entstehen läßt als der hydrolytische in vitro".

Ich gehe auf einige Nebenergebnisse meiner Arbeit ein.

Die bekanntlich häufig eintretende Steigerung der Eiweißzersetzung durch große Gaben von Benzoesäure zeigte

---

[1]) Wiechowsky hatte in drei besonderen Versuchen festgestellt, daß die Hippursäureausscheidung in 12 Stunden, die der Benzoesäure in 8 Stunden beendet war.

sich deutlich in dem Hungerversuch am Hammel. Am 1. und 2. Hungertag hatte das Tier 5—7 g N ausgeschieden, durch 30,0 Benzoesäure stieg der Harn N auf 11—13 g.

Die Hippursäureausscheidung des hungernden Hammels war absolut und relativ viel niedriger als bei Heufutter und Sahne. Man wird das jetzt nicht mehr auf einen im Verhältnis zum Heueiweiß niedrigeren Gehalt des Körpereiweißes an präformiertem Glykokoll beziehen dürfen. Vielleicht ist daran zu denken, daß die Benzoesäure aus dem leeren Verdauungskanal in der Zeiteinheit in so viel größeren Beträgen resorbiert und wieder ausgeschieden wird, daß sie nicht Zeit hat, sich bei dem schnellen Durchtritt durch den Körper genügend mit Glykokoll zu paaren. Auffällig ist freilich in beiden Versuchen beim Hammel die absolute und relative Abnahme der Hippursäure im Laufe der Reihe; beim Kaninchen ist davon nichts zu bemerken.

Die Maxima der Quotienten (Glykokoll-N : Harn-N) sind bei beiden Tieren gleich. Pro Kilo liefert das Kaninchen mehr Glykokoll als der Hammel; dessen größte Ausscheidung betrug 0,9 pro Kilo, Kaninchen I und II erreichen fast das Doppelte, 1,8 und 1,7 g.

Hier seien noch Zahlen aus einer alten Arbeit von H. Weiske[1]) angeführt, der N und Hippursäure nebeneinander bestimmt hat, freilich ohne sie miteinander in Beziehung zu setzen. Er fand beim Hammel, der täglich 1000 g Heu fraß, im Mittel dreitägiger Perioden für 24 Stunden:

Benzoesäure gefüttert	a N	b Hippursäure	c N der Hippursäure	$\frac{c}{a}$
0	10,77	16,05	1,25	12%
5	10,44	25,11	1,96	19%
10	10,89	31,74	2,48	23%
15	11,09	36,49	2,85	26%

Auch ohne Benzoesäureverfütterung kann der Quotient bei geeigneter N-armer Nahrung sehr hoch steigen, sofern diese viel Benzoesäure entstehen läßt. Ich finde bei Pfeiffer, Rieke

[1]) Weiske, Zeitschr. f. Biol. 12, 241. 1876, s. S. 254.

und Bloch[1]) auf S. 718 eine 6tägige Reihe mit 4,161 N und 12,35 Hippursäure mit 0,97 N, S. 702 beim Hammel II eine 8tägige Ausscheidung von 4,66 g N, 13,346 Hippursäure = 1,04 N. In beiden Fällen betrug der $\frac{\text{H-N}}{\text{Ges.-N}} = 23\%$.

Gesamt-Benzoesäureausscheidung.

	Tage	Benzoesäure verfüttert	Benzoesäure				in % der verfütterten
			aus Hippursäure	freie	aus B-Glucuronsäure	im ganzen	
1. Kaninchen I	1—3	1,0	0,76	0,08	—	0,86	
	4—5	0,85	0,55	?	—	?	
	6—9	1,25	1,23	0,04	—	1,27	102 } 98
	10—12	2,06	1,80	0,17	—	1,97	96 }
2. Kaninchen II	1—2	1,77	1,22	0,07	—	1,29	73
	3	2,02	1,29	0,12	—	1,41	70
3. Hammel I	1	30	—	—	—	—	
	2—3	40	32,2	8,9	5	46,1	115 } 112
	4	50	24,8	16,8	12	53,6	107 }
4. Hammel II	3	30	19,2	3,9	5	28,1	}
	4	30	10,9	13,4	4	28,3	} 99
	5	30	9,6	15,2	8	32,8	}

In Versuch I (6—12) fand ich alle Benzoesäure wieder. Die Zahl von 102% für wiedergefundene Benzoesäure erklärt sich teils aus unvollständiger Abgrenzung des Urins, d. h. Zumischung von Urin der Periode 2 zu dem von 3, teils dadurch, daß auch aus den aromatischen Kernen des Eiweißes einige in der Einnahme nicht berechnete Zentigramme Benzoesäure täglich entstehen. Der Hammel bildet bei Heufutter große Mengen Hippursäure (bei 2 Pfund Heu bis zu 15 g und mehr[2])), diese sind in dem scheinbaren Überschuß der ausgeschiedenen Benzoesäure (112%) enthalten. Im Hungerversuch sind Ein- und Ausfuhr gleich; doch ist aus den in der vorigen Arbeit aus-

[1]) Pfeiffer, Rieke und Bloch, Mitteilungen a. d. landwirtschaftl. Versuchsstationen zu Breslau 2, 695, 1904.

[2]) Weiske l. c.

geführten Gründen die Gesamtbenzoesäure vielleicht etwas zu hoch berechnet. Die direkte Bestimmung nach Pfeiffer hatte ich nicht ausgeführt.

In den zwei Versuchen I und IV ist sonach alle Benzoesäure wiedergefunden; ob das Defizit in II im Stuhl geblieben war (es war das schwerer lösliche Benzamid gegeben worden), kann ich nicht sagen. In Versuch I habe ich im Milchkot von 8 Tagen keine Spur Benzoesäure gefunden.

Über das Verhalten benzoylierter Aminosäuren im Organismus.[1])

Von

Adolf Magnus-Levy.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1907.)

Für die Entstehung der großen Mengen gebundenen Glykokolls nach Benzoesäurefütterung, die nicht auf präformiertes Glykokoll zurückgeführt werden können[2]), sind verschiedene Erklärungen denkbar. Eine Möglichkeit wäre die, daß aus dem Eiweiß im Organismus durch die gewöhnliche hydrolytische Spaltung Aminosäuren (z. B. Leucin, Alanin usw.) entstehen, die sich nunmehr mit Benzoesäure paaren, und daß diese benzoylierten Aminosäuren oxydativ zu Hippursäure abgebaut würden. Man kann sie ja als alkylierte Hippursäure auffassen

$$C_6H_5-CO-\underset{\substack{|\\ COOH}}{\overset{\substack{R\\ |}}{C}}H\cdot NH_2+xO=C_6H_5-CO-CHNH_2\cdot COOH+y\,CO_2+z\,H_2O.$$

Um diese Idee zu prüfen, mußte man zunächst untersuchen, ob solche benzoylierten Aminosäuren überhaupt zu Hippursäure oxydiert werden, wenn man sie dem Körper einverleibt.

Man kann gegen die obige Idee verschiedene Einwände machen, vor allem den, daß es bisher nicht gelungen ist, die Hippursäureausscheidung nach Benzoesäurezufuhr durch Eingabe großer Mengen von Aminosäuren mit mehr als 2 C-Atomen zu erhöhen.

Die ersten vier Versuche, die ich überhaupt mit einer benzoylierten Aminosäure anstellte, hatten aber ein positives Resultat,

---

[1]) Eine vorläufige Mitteilung eines Teils dieser Versuche erfolgte in der Münch. med. Wochenschr. **1905**, Nr. 45 unter dem Titel: Über die Herkunft des Glykokolls in der Hippursäure.

[2]) Siehe Magnus-Levy, die vorhergehende Arbeit.

einen Übergang in Hippursäure ergeben; sie waren die Veranlassung, theoretische Bedenken beiseite zu setzen. Bei der Prüfung zahlreicher weiterer Körper habe ich freilich nur negative Ergebnisse zu verzeichnen gehabt.

Geprüft wurden die Benzoylverbindungen folgender Körper:

	Versuch
a) einer „unbekannten Aminosäure"	
1. aus der Leucinfraktion einer tryptischen Eiweißverdauung	1—5
b) Amino-monocarbonsäuren	
2. d,l- und l-Alanin	6—9
3. d,l- und α-Aminobuttersäure	10, 11
4. d,l- und α-Aminoisovaleriansäure	12
5. d,l- und l-Leucin	13—19
6. d-Isoleucin	20
7. d,l-Phenylalanin	21, 22
c) Aminodicarbonsäuren[1])	
8. l-Asparaginsäure	23, 24
9. d-Glutaminsäure	25, 26
d) Diaminoverbindungen	
10. d-Ornithin	27
e) Aminooxysäuren	
11. d,l-Serin	28, 29

Soweit optisch aktive Körper benutzt werden, waren es stets die in der Natur vorkommenden Modifikationen. Um eine Spaltung im Darm zu vermeiden, wobei Bildung freier Benzoesäure und folgende Paarung mit Glykokoll zu befürchten war, wurden die Säuren subcutan (als Natronsalze) injiziert. Alle Präparate wurden beim Kaninchen geprüft, Nr. 1, 5 und 8 außerdem noch beim Hund.

Nur die unter 1 genannte Benzoylverbindung einer „unbekannten Aminosäure" erfährt die Umwandlung in Hippursäure, alle anderen gehen unverändert durch den Organismus hindurch, darunter auch das Benzoylleucin.

Die auf vier Versuchen beruhende Angabe in meiner vorläufigen Mitteilung, daß Benzoylleucin in Hippursäure

[1]) In der vorläufigen Mitteilung steht versehentlich Diaminosäuren.

übergingе, beruht auf einem Irrtum. Das von mir für Benzoylleucin gehaltene Produkt, das in Hippursäure verwandelt wird, war kein Leucinderivat gewesen. Das vermeintliche Leucin stammte aus der durch Krystallisation (nach dem alten Verfahren) erhaltenen Leucinfraktion einer pankreatischen Verdauung. Es war zahlreiche Male unkrystallisiert, aber auf seine Natur von mir nicht genügend geprüft worden. Die Benzoylierung ergab ölige Substanzen, aus denen mit großer Mühe und unter großen Verlusten ca. 12—15 g einer festen Substanz gewonnen wurden. N-Gehalt und Schmelzpunkt zeigten einige Abweichungen vom Verhalten reinen Benzoylleucins, die ich auf geringe Beimengungen anderer Substanzen schob.

Die späteren sechs Versuche mit dem Benzoylprodukt des synthetischen d,l- und l-Leucins zeigten übereinstimmend die Unveränderlichkeit dieses Körpers, und zwar u. a. auch bei demselben Hund, der die obige Substanz (zum großen Teil) in Hippursäure verwandelt hatte. Damit war erwiesen, daß die letztere nicht Benzoylleucin gewesen sein konnte. Ihre wahre Natur festzustellen, schien aussichtslos, da ich von der Aminsoäure nichts mehr, von dem Benzoylkörper nur noch 1 g besaß. Ich benutzte diesen Rest zu einer abermaligen Prüfung des physiologischen Verhaltens. Auch dieser fünfte Versuch bestätigte das Ergebnis des früheren.

Die fragliche Substanz war in zwei Versuchen beim Kaninchen vollständig, in einem weiteren zu 70—80% in Hippursäure übergeführt worden; in zwei Versuchen beim Hunde erreichte der Umwandlungsquotient ca. 50—70%[1]).

Daß ich aus einer „Leucinfraktion", die doch sicher viel wirkliches Leucin enthielt, beim Benzoylieren gerade nur die Beimengungen in die Hände bekam, beruht wahrscheinlich darauf, daß deren Benzoylverbindungen leichter krystallisieren als die des Leucins. Die Ausbeute an krystallisierter Substanz war sehr gering gewesen.

Da alle weiterhin untersuchten Benzoylverbindungen der verschiedenen Klassen von Aminosäuren im Körper unverändert

---

[1]) Das Kaninchen hatte 1,0—1,2 g (pro Kilo und Tag) vollständig umgewandelt (Versuch 1 und 2), der Hund 0,5 und 0,3 g pro Kilo nicht vollständig. Inwieweit dieser Unterschied mit den sonstigen Verschiedenheiten des Hippursäurestoffwechsels bei den zwei Tierarten in Beziehung steht, läßt sich zur Zeit nicht übersehen.

blieben, vermutete ich, daß die unbekannte Aminosäure möglicherweise eine Aminooxysäure gewesen sein könne; die Oxygruppe hätte vielleicht den Angriffspunkt der Oxydation gebildet. Allein zwei Versuche mit benzoyliertem Serin (α-Amino-β-oxypropionsäure) zeigten, daß auch dieser Körper von den Zellen des Tieres nicht verändert wird.

Die Genese der Hippursäure kann somit nicht auf Zusammentritt der Benzoesäure mit bekannten Aminosäuren und nachfolgendem oxydativen Abbau zurückgeführt werden. Aus der Umwandlung der benzoylierten „unbekannten Aminosäure" in Hippursäure können zunächst keine Schlüsse gezogen werden, weder nach der positiven, noch nach der negativen Seite. Noch harren 50% und mehr des Eiweißmoleküles ihrer Aufklärung, und unter den bisher nicht ermittelten Bestandteilen mögen manche sein, die sich in ihren Benzoylverbindungen ebenso verhalten, wie die unbekannte Aminosäure, die ich in Händen gehabt habe. Hier muß die chemische Forschung erst weitere Fortschritte machen, bevor eine physiologische Prüfung von neuem einsetzen kann.

Wie die nachfolgende Beschreibung zeigt, habe ich so gut wie nie wesentliche[1]) Hippursäuremengen neben den unverändert ausgeschiedenen benzoylierten Aminosäuren (2—11) gefunden, obwohl ich die Mutterlaugen genau darauf untersuchte. Das beweist, daß diese benutzten Substanzen auch nicht teilweise im Körper gespalten wurden. Denn dann hätte ein Teil der freigewordenen Benzoesäure entweder als solche oder als Hippursäure im Harn erscheinen müssen.

Schmiedebergs hippursäurespaltendes Ferment, das Histozym, scheint danach im normalen Stoffwechsel des Kaninchens nicht wirksam zu sein; unter pathologischen Verhältnissen, namentlich bei Nierenkrankheiten, soll dagegen die Hippursäure in größerem Umfang zerlegt werden. (Stokvis und Jarsfeld.)[2])

Wenngleich nun bei den Benzoylverbindungen von zehn Aminosäuren keine Spaltung eintrat, könnte man eine solche viel-

---

[1]) D. h. mehr als einige Zentigramme, die dem normalen Stoffwechsel der Tiere entstammen.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **10**, 268, 1879.

leicht gerade für die Verbindung der unbekannten Aminosäure annehmen wollen. Diese letztere wäre dann ganz verbrannt worden, die Benzoseäure hätte sich im Körper mit Glykokoll aus Eiweiß gepaart. Dann wäre aber auffallenderweise die Spaltung quantitativ erfolgt, wofür keine Analoga vorliegen, denn wenigstens in Versuch 1 und 2 habe ich nur Spuren unveränderter Substanz wiedergefunden. Auch wäre zu erwarten gewesen, daß wenigstens einige Prozente der freigewordenen Benzoesäure der Paarung mit Glykokoll entgangen und als solche im Urin aufzufinden gewesen wären. Das war aber nicht der Fall.

Ich glaube demnach auch für diese Benzoylverbindung die Annahme einer Spaltung ablehnen zu dürfen; ihr Übergang in Hippursäure muß durch oxydative Entfernung ihres Alkylrestes zustande gekommen sein.

Experimenteller Teil.

Einverleibtes Material.

Sämtliche Benzoylprodukte (mit Ausnahme des aus Hühnerexkrementen dargestellten Dibenzoyl-ornithins = Ornithursäure) wurden nach den Vorschriften von E. Fischer aus den Aminosäuren dargestellt. Von den Aminosäuren waren Nr. 1—4 Fabrikpräparate von Kahlbaum und Schuchardt.

5. und 6. α-Aminobuttersäure und α-Aminoisovaleriansäure wurden aus den entsprechenden Bromverbindungen in der Racemform dargestellt.

7. d-Glutaminsäure war ein im Institut vorrätiges Produkt aus Eiweiß.

8. Isoleucin-benzoyl wurde mir von seinem Darsteller F. Ehrlich zur Verfügung gestellt.

9. Serin wurde synthetisch gewonnen.

Aktives Benzoylalanin wurde nach E. Fischers Vorschrift über das Brucinsalz dargestellt.

Aktives l-Benzoylleucin; da die Spaltung des d-l-Benzoylleucins durch Cinchonin und Chinidin nicht genügend glatt verlief, habe ich das Leucin erst nach E. Fischer formyliert, das Formylprodukt durch Brucin zerlegt, aus dem l-Formylleucin das l-Leucin dargestellt, und dieses nunmehr benzoyliert. Der

Umweg ist nur scheinbar; die Formylierung und die Spaltung der Formylprodukte erfolgt ohne Schwierigkeiten und in sehr guter Ausbeute, ebenso die Benzoylierung des reinen l-Leucins.

Injektion.

Die Säuren wurden in der berechneten Menge Normalnatronlauge gelöst und zu einer 10prozentigen Lösung mit Wasser aufgefüllt. Die angegebenen Mengen bedeuten Gramme der freien Säure, nicht des Natronsalzes. Solange ich zu den Injektionen Stempelspritzen benutzte, ließen sich Verluste nicht ganz vermeiden; später, als die Lösung aus graduierten Büretten in die Kanüle lief, war das nicht mehr der Fall.

Gewinnung der einverleibten Substanzen aus dem Harn.

Der Harn wurde meistens bis 48 Stunden nach der Injektion (unter Toluol oder Chloroform) aufgefangen. Wiechowsky zufolge genügt nach subcutaner Einspritzung von Benzoesäure eintägiges Auffangen des Urins. Der Harn wurde bei neutraler oder schwach essigsaurer Reaktion auf $^1/_4$—$^1/_5$ eingedampft, mit wenigen Kubikzentimetern verdünnter Schwefelsäure versetzt[1]). Darauf fiel die Hauptmenge der Benzoylaminosäuren sehr bald krystallinisch, nur bei einzelnen Substanzen (B-Glutaminsäure und B-l-Leucin) ölig aus. Das Filtrat von den ausgefällten Säuren wurde im Perkolator mit Äther erschöpft. Aus dem Äther schieden sich bei freiwilligem Verdampfen entweder kleinere Mengen Krystalle aus, die mit wenig Wasser rein gewaschen werden konnten, oder aber ölige Substanzen. Die von vornherein in krystallinischem Zustand gewonnenen Stoffe waren durch Umkrystallisieren aus Wasser (unter Zusatz von Tierkohle, manchmal auch unter Zusatz kleiner Mengen Alkohol) leicht ganz rein zu erhalten.

Die stark gefärbten öligen Produkte nach Injektion der Glutaminsäure, der l-Leucin- und Isoleucinpräparate wurden mit Normalkalilauge genau neutralisiert, durch Kochen mit Tierkohle mög-

---

[1]) Später, als ich sehr große Apparate zur Ätherextraktion besaß, habe ich den Harn, ohne ihn einzuengen, sofort angesäuert und mit Äther erschöpft.

lichst entfärbt, eingedampft und mit wenig mehr als der berechneten Menge Normalschwefelsäure gefällt, worauf wieder Öle ausfielen. Die wässerige Schicht wurde darauf von dem Öl abgegossen und für sich mit Äther erschöpft, der abermals ölige Ätherrückstand mit dem zuerst ausgefallenem Öl vereinigt und mit etwas eiskaltem Wasser überschichtet. Bei den l-Leucin- und Isoleucinverbindungen erstarrte das Öl langsam und ging bei wiederholtem sorgfältigen Auskneten mit eiskaltem Wasser allmählich in den krystallinischen Zustand über. Die Präparate waren dann gewöhnlich schon rein; wenn nicht, wurde die beschriebene Reinigung noch einmal wiederholt. Bei der Benzoylglutaminsäureverbindung gelang es weder die verfütterte, noch die ausdem Harn wiedergewonnene Verbindung krystallinisch zu erhalten.

Identifikation der aus dem Harn gewonnenen Substanzen:

Überall wurde der Schmelzpunkt bestimmt, und zwar fast stets an 2—3 durch Umkrystallisation erhaltenen Fraktionen, wobei es als für die Reinheit der zweiten und dritten Fraktion genügend angesehen wurde, wenn deren Schmelzpunkt um wenige (2—4) Grade unter dem der reinen Substanz lag. In den meisten Fällen wurde der N-Gehalt ermittelt. Einige benzoylierte Aminosäuren wurden verseift und der N-Gehalt der abgespaltenen und gereinigten Aminosäure festgestellt. Das geschah insbesondere dort, wo Hippursäure erhalten wurde. Ziemlich häufig wurde auch das Molekulargewicht oder vielmehr das Äquivalentgewicht der Benzoylsäuren durch Titration mit Normalkalilauge unter Anwendung von Phenolphthalein als Indicator festgestellt. Die so gewonnene Lösung der Kalisalze wurde auf ein bestimmtes Volum (entsprechend einem Gehalt von 6—8% der Säure in der Lösung) gebracht und zur Bestimmung der spezifischen optischen Drehung benutzt.

Quantitativer Vergleich zwischen eingegebener und wiedergefundener Substanz. Auftreten von Hippursäure neben anderen Säuren. In einigen Versuchen, namentlich den ersten, hatte ich auf vollständige Gewinnung der Säuren aus dem Harn keinen Wert gelegt; die Ausbeute ist da zu gering ausgefallen (mit > ....g bezeichnet). Als ich später quantitativ

vorging, erhielt ich bei den leicht krystallisierenden Körpern 80—95% des Ausgangsmateriales resp. der der injizierten Quantität entsprechenden Hippursäure (Vers. 1 und 2) wieder. In Anbetracht der Verluste bei der Injektion und beim Auffangen des Urins, in Berücksichtigung ferner der Verluste bei der Reindarstellung der Körper aus dem Urin, ist anzunehmen, daß in diesen Versuchen die injizierte Substanz vollständig unverändert durch den Körper durchgegangen war. In allen diesen Fällen, in denen auch die letzte Krystallfraktion angenähert den richtigen Schmelzpunkt zeigte, blieben nur unbedeutende Mutterlaugen zurück, die nach ihren geringen, gelegentlich durch Titration bestimmten Mengen keine oder nur unbedeutende Mengen Hippursäure enthalten konnten.

In den Versuchen mit schlecht krystallisierenden Verbindungen blieb die Ausbeute an kyrstallisierter Säure aus dem Harn wegen der Schwierigkeit der Darstellung stärker hinter der eingegebenen Menge zurück. In diesen Fällen habe ich mich davon überzeugt, daß auch die Muterlaugen noch stark optisch aktiv waren. In einem Fall spaltete ich die Mutterlaugen mit Salzsäure und wies die Abwesenheit von Glykokoll nach Fischers Veresterungsmethode nach (Versuch 18).

Da wo Hippursäure neben einer anderen schlecht krystallisierenden Substanz in nicht zu kleinen Mengen im Harn vorkommt, schied es sich verhältnismäßig leicht aus dem Öl aus und konnte leicht davon befreit, wenn auch nicht quantitativ gewonnen werden (s. Versuch 3, 4 und 5 am Hund).

In den Versuchen am Kaninchen endlich, in denen die Benzoylverbindung der unbekannten Aminosäure in Hippursäure überging, war dieser Übergang so vollständig, daß fast die ganze aus dem Harn gewonnene Säure als Hippursäure (drei Fraktionen) zu identifizieren war; die sehr geringen Mutterlaugen konnten, wenn es überhaupt der Fall war, nur wenig der injizierten Substanz enthalten (s. Versuch 1 und 2).

Normale Hippursäurebildung.

Die Mengen Hippursäure, die Kaninchen unter normalen Verhältnissen bilden, sind gering. Ich fand bei einem Kaninchen von 2 Kilo bei Kartoffelkost in drei Tagen 0,12, bei Weizen und Kartoffeln in vier Tagen 0,15 g Hippursäure im Harn, also für den

Tag 3—4 cg. Ähnliche Quantitäten gibt auch Wiechowsky[1]) an. Da ich in meinen Versuchen gewöhnlich 2 g und mehr der verschiedenen benzoylierten Säuren injiziert, so verschwinden jene kleine Mengen normal gebildeter Hippursäure daneben vollständig und bleiben beim Umkrystallisieren in den Mutterlaugen.

Die einzelnen Versuche.[2])

I. Benzoylverbindung einer unbekannten Aminosäure,

aus der „Leucinfraktion" einer Pankreas-Fibrin- oder pankreatischen Selbstverdauung stammend. Die „Leucinfraktion" selber war zahlreiche Male umkrystallisiert worden, ebenso das in sehr schlechter Ausbeute gewonnene Benzoylprodukt. Smp. 113°, N 5,5°, K-Salz rechtsdrehend. (Für Benzoylleucin, wofür es ursprünglich gehalten wurde, verlangt Smp. 104—106°, 5,95% N.)

Versuch 1[2]). Kaninchen, 2,0 kg, erhält 2,0 g. Aus dem Harn bei unvollständiger Verarbeitung 1,2 g Hippursäure, Smp. 185°, K-Salz optisch inaktiv.

Versuch 2. Dasselbe Kaninchen erhält an drei Tagen zusammen 6,5 g. Aus dem Harn 4,5 g Hippursäure (aus 6,5 „Benzoylleucin" konnten 4,95 g Hippursäure entstehen). Die Substanz wird in drei Fraktionen zerlegt. Smp. aller drei Fraktionen 187°; Glykokoll, aus der Hippursäure abgespalten, enthält 18,4% N (ber. 18,66%).

Versuch 3. Hund von 8,0 kg, erhält 4,3 g desselben Präparates. Aus dem Urin über 1,0 g Hippursäure, Smp. 187°; daneben viel nichtkrystallisierendes Öl.

Versuch 4. Derselbe Hund, erhält 2,4 g eines racemisierten Produktes. (Die Aminosäure durch Erhitzen mit Baryt racemisiert, dann benzoyliert.) N = 6,14%, Smp. 97°. Aus dem Urin 1,23 g Hippursäure, Smp. 183°, N = 7,7% (soll 7,82), daneben ca. 0,7 g Öl, das bei der Spaltung Benzoesäure gibt, aber keinen salzsauren Glykokollester (wahrscheinlich unveränderte injizierte Substanz).

Versuch 5. Ein Kaninchen von 3,0 kg erhält den noch vorhandenen Rest des Präparates, 1,0 g. Aus dem Urin erhalten zwei

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7.

[2]) Die Nummerierung stimmt (außer bei Nr. 1—4) nicht mit der zeitlichen Reihenfolge überein.

Fraktionen von zusammen 0,52 g, Smp. 187°, N = 7,7% statt 7,82%; ferner 0,2 g eines Gemisches, das unscharf über 130° sintert und bei 160° schmilzt, und dessen N-Gehalt mit 6,6% unter dem der Hippursäure und über dem des Ausgangsmateriales liegt, also ein Gemisch beider Substanzen ist.

Der Hund, der zu Versuch 3 und 4, sowie das Kaninchen, das zum Versuch 5 gedient hatte, schieden Benzoylleucin unverändert aus.

II. Benzoyl-alanin.

a) Racemisches Präparat. Smp. 162—163° (soll 162—163°). N = 6,94% (ber. 7,25%). (Mol.-G. 193.)

Versuch 6. Kaninchen, 2½ kg, erhält 4,0 g. Aus dem Urin bei unvollständiger Verarbeitung erhalten > 2,5 g; Smp. 161°.

Versuch 7. Kaninchen, 2½ kg, erhält 3,8 g. Aus dem Urin 3,6 g, Smp. 161°. Das durch Spaltung gewonnene Alanin gibt 15,53% N (ber. 15,72%).

b) d-Verbindung. Smp. 142° (soll 147—148°). Drehung der Säure in Form des K-Salzes +37,5° (soll +37,1°).

Versuch 8. Kaninchen, 1,9 kg, erhält 2,0 g. Aus dem Urin 1,7 g Rohsubstanz, N = 6,96%, Smp. 140—142°.

Versuch 9. Kaninchen, 2,0 kg, erhält 2,0 g. Aus dem Urin 1,85 g Rohsubstanz, N = 7,31%, Smp. 142°. Spez. Drehung = + 36,3°.[1])

III. Benzoyl-α-aminobuttersäure.

Racemisches Präparat. Smp. 141° (soll 143—144°). N=6,87% (ber. 6,76%).

Versuch 10. Kaninchen, 2 kg, erhält 4,5 g. Aus dem Urin bei unvollständiger Verarbeitung 3,2 g, Smp. 141°, N = 6,81%.

Versuch 11. Kaninchen, 1,0 kg, erhält 0,8 + 0,8 + 0,9 g in drei Tagen, zusammen 2,5 g. Aus dem Harn 2,47 g roh, 2,15 g rein, Smp. 140° u. 139°.

---

[1]) Daß Benzoylalanin im Organismus nicht angegriffen wird, hat schon Wingler, ein Schüler E. Baumanns, festgestellt. Ich fand die in einer Doktordissertation (Freiburg 1895) verborgene Angabe erst nach Abschluß meiner Versuche.

IV. Benzoyl-α-amino-isovaleriansäure.

Racemisches Präparat. Smp. 129° (soll 130—132°). N=6,30 statt 6,33%.

Versuch 12. Kaninchen, 2 kg, erhält 1,5 + 1,0 = 2,5 g in zwei Tagen; wiedererhalten 2,3 g, Smp. 130°, N = 5,97%.

V. Benzoyl-Leucin (Mol.-G. = 235 N = 5,95%).

a) Aus natürlichem Leucin (anderer Herkunft, als die „Leucinfraktion" I, Versuch 1—5). Smp. 102° (soll 106—109°), N = 6,09% (soll 5,95%).

Versuch 13. Kaninchen, 2 kg, erhält 2,0 und 1,5 g in zwei Tagen. Die ätherischen Urinextrakte sind nicht zur Krystallisation zu bringen. Mit KOH starke Rechtsdrehung.

b) Aus synthetischem Leucin:

α) racemisches Präparat, Smp. 139° (soll 135—139°), N = 5,90% (soll 5,95%).

Versuch 14. Kaninchen, 1,8 kg. Injiziert 5,0 g. Wiedergewonnen 4,6 g, Smp. 139°.

Versuch 15. Hund, 8,0 kg. Injiziert 3,0 g. Wiedergewonnen nur 1,4 g, Smp. 136°. Äq.-Gew. 238 (soll 235), N = 5,91 %; daneben 0,2 g Hippursäure (aus Benzoesäureabkömmlingen der Nahrung ?).

β) Benzoyl-l-Leucin. Smp. 105—109° (soll 105—107°), N = 6,00% (soll 5,95%).

Versuch 16. Kaninchen, 1,75 kg. Injiziert 1,4 g. Wiedergewonnen >0,6 g, Smp. 106°. Mol.-G. 236. Spez. Drehung des Kalisalzes +6,4° (soll nach E. Fischer +6,59°).

Versuch 17. Kaninchen, 1,5 kg, erhält 3,0 g. Wiedergewonnen 2,6 g, Smp. 106°, N = 6,0%. Kalisalz dreht rechts.

Versuch 18. Kaninchen, 3,0 kg. Injiziert 2,35 g. Wiedergewonnen 1,63 g, Smp. 107°, N = 5,87%. Kalisalz dreht rechts. Durch Verseifen erhaltenes Leucin enthielt 10,66% N (ber. 10,69%).

Versuch 19. Hund, 8,0 kg, erhält 2,5 g. Wiedergewonnen 2,3 g, Rohprodukt. Nach dem Umkrystallisieren: Smp. 107°, N = 5,58% (?).

Aus den vereinigten Mutterlaugen der krystallisierten Benzoylprodukte der Versuche 16, 17 und 18, werden noch 0,57 g reines Benzoylleucin erhalten. Die Mutterlaugen werden mit HCl

verseift, die Benzoesäure entfernt. Bei der Veresterung wird kein salzsaures Glykokollester erhalten (im Kontrollversuch ja). Abwesenheit von Hippursäure!

VI. d-Benzoyl-Isoleucin.

Von Dr. F. Ehrlich überlassen. Smp. 116°.

Versuch 20. Kaninchen, 1,2 kg, erhält 0,92 g. Wiedergewonnen außer etwas öliger Substanz 0,5 g Isobenzoylleucin, Smp. 116°. Mol.-G. 218 (statt 235). N = 5,31 statt 5,95%. Trotz der mangelhaften N-Analyse ist die Identität der Säure aus dem Urin mit der injizierten Substanz durch Smp. und Mol.-G. wohl genügend bewiesen. Mangels weiterer Substanz kann der Versuch nicht wiederholt werden.

VII. Benzoyl-dl-phenyl-alanin.

Die Aminosäure ist von Schuchardt bezogen (laut briefl. Mitteilung aus Benzylmalonsäure über die α-Bromhydrozimtsäure nach E. Fischer B. 37. 3062 hergestellt). Smp. 245° (Beilstein 256°). N gefd. = 8,39%, ber. 8,40%; gibt mit Chromsäure die Phenylacetaldehydreaktion.

Die Benzoylierung verläuft quantitativ. Smp. des mehrfach aus verdünntem Alkohol umkrystallisierten Präparates konstant bei 163—164°. E. Fischer gibt für das nach Erlenmeyer dargestellte Präparat 187—188° an, also einen viel höheren Wert. Das Präparat ist wasserfrei und gibt richtige analytische Werte.

Gef. 71,05% C; 5,55% H; 5,20% N
Ber. 71,37% C; 5,57% H; 5,21% N.

Versuch 21. Kaninchen, 1,2 kg, erhält 2,0 g. Nach drei Stunden ist das Tier tot, ohne daß die Sektion eine Todesursache ergibt.

Versuch 22. Kaninchen, 2,0 kg, erhält 1,5 g. Extraktion des Urins mit Essigäther, da Äther die Substanz zu schwer löst. Schlechte Krystallisation, daher Verluste bei der Reinigung. Gewonnen 0,98 Benzoyl-Phenylalanin, Smp. 162—163°, N = 5,03%.

VIII. Benzoyl-l-asparaginsäure.

Smp. 179° (soll 180—181°), N = 5,80% (ber. 5,90%).

Versuch 23. Kaninchen, 2 kg, erhält 5,0 g. Aus dem Urin 4,2 g, Smp. 180°, N = 5,95%.

Versuch 24. Hund, 8 kg, erhält 5,0 g. Aus dem Urin 4,0 g, Smp. 179°. Äquivalentgewicht 123 (½ Mol.-Gew. = 118,5).

IX. Benzoyl-d-glutaminsäure.

Die zur Injektion benutzte Substanz krystallisiert nicht.

Versuch 25 und 26. Ein Kaninchen von 2,0 kg und ein Tier von 2½ kg erhalten je 2,0 g. Der saure Ätherextrakt aus dem Urin krystallisiert nicht. Die wässerige Lösung der Säure dreht in beiden Fällen stark links. Durch Zerkochen mit HCl daraus reichliche Mengen Benzoesäure und salzsaure Glutaminsäure gewonnen. (HCl gef. = 18,93%, ber. 19,34%.)

X. Ornithursäure = (Dibenzoyl-d-ornithin)

aus Hühnerharn, zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. Smp. 184°. Die alkoholische Lösung der Säure dreht rechts, ebenso die wässerige Lösung des Na-Salzes.

Versuch 27. Kaninchen, erhält 4,0 g. Aus dem eingedampften Urin durch Ausfällen mit H_2SO_4, ohne nachfolgende Ätherextraktion, 3,5 Ornithinsäure gewonnen. Smp. 184°. Die alkoholische Lösung aller drei Fraktionen dreht rechts. Äquivalentgewicht gef. = 342 (ber. 340). Durch Zerkochen mit HCl ein salzsaures Salz gewonnen, das in wässeriger Lösung rechts dreht, in Methylalkohol löslich ist. Platinbestimmung im Platinsalz verunglückt.

XI. N-Benzoylserin.

$C_{10}H_{11}NO_4$. Mol.-Gew. = 209.

Serin wird aus Chloracetal nach Leuchs dargestellt. Bei der Benzoylierung nach E. Fischer bleibt beim Ansäuern das ganze Benzoylserin in Lösung; es wird nach Extraktion der sauern Lösung mit Toluol (zur Entfernung gelöster Benzoesäure), mit Äther extrahiert, aus dem es beim Verdunsten analysenrein herauskrystallisiert. Umkrystallisation aus wenig Wasser. Smp. 169° C.

Gef. 57,61% C; 5,20% H; 6,44% N
Ber. 57,42% C; 5,25% H; 6,70% N.

Versuch 28. Kaninchen, erhält 3,0 g Substanz. Infolge von Verlusten nur 1,6 g reine Substanz wiedererhalten. Smp. 164°. Die Substanz und die nicht mehr krystallisierenden Mutterlaugen

zeigen keine Drehung! (Keine Spaltung in den optischen Komponenten mit teilweiser Verbrennung der einen.)

Versuch 29. Kaninchen. Auf 3,0 g Substanz wiedererhalten 3,0 g roh, 2,3 g rein, Smp. 167°. In den Mutterlaugen von der reinkrystallisierten Substanz keine optische Drehung. Äquivalentgewicht gef. 212 (ber. 209). Das durch Säure abgespaltene Serin ins Kupfersalz übergeführt enthält 29,1 % CO (ber. 29,2%; Glykokollkupfer enthält 37,2% CuO).

Über das Verhalten formylierter Aminosäuren im Organismus.

Von

Adolf Magnus-Levy.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischeu Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1907.)

Im Gegensatz zu den benzoylierten Aminosäuren werden die formylierten im Organismus angegriffen, wenigstens soweit es sich um die natürlich vorkommenden optischen Modifikationen handelt.

Formylglykokoll wird vollständig gespalten, die Spaltungsprodukte werden zum großen Teil verbrannt, zum Teil finden sie sich im Harn. Von 7 g Formylglykokoll, die an zwei Tagen gegeben werden, entsprechend rund 5,0 g Glykokoll und 3,0 g Ameisensäure, fand ich 1,1 g freies Glykokoll = 22% und 1,48 g Ameisensäure = 50% wieder.

Formyl-d-Leucin wird nicht angegriffen, ich konnte von 4,0 g und 3,5 g 90—92% aus dem Harn wiedergewinnen. Von 1,5 und 3,2 g des Formyl-l-Leucins erhielt ich 7 und 19% zurück. Nach Injektion von 4,0 g eines racemischen Produktes wurden 2,2 g ausgeschieden, wovon 1,8 g der d-, 0,4 g der l-Verbindung angehörten, entsprechend 90 und 20% der eingeführten, optischwirksamen Anteile. In Anbetracht der bei der Extraktion und Reinigung unvermeidbaren Verluste sind die unverändert ausgeschiedenen Mengen auf 100% beim d- resp. 20—25% beim l-Körper zu erhöhen. Obgleich von dem letzteren nur halb so viel Moleküle[1]) gegeben wurden, wie von dem Formyl-Glykokoll, das

[1]) 1,5, 2,0 und 3,2 Formylleucin sind rund 10, 13 und 20 Milligrammmoleküle, 3,5 g Formylleucin 34.

vollständig gespalten wurde, blieb ein Teil des Leucinkörpers ungespalten.

Beim Formyl-Glykokoll fand sich freies Glykokoll im Harn, in den Leucinversuchen konnte weder Leucin noch Glykokoll aus dem Harn isoliert werden.

Die große Ausscheidung ungebundener Ameisensäure, 1,48 g an zwei Tagen = 50 % der gebunden eingeführten, entspricht früheren Ergebnissen. C. Schotten[1]) fand (1883) nach Eingabe von 20,0 g ameisensauren Natriums (beim Pferd?) 26% wieder; Gréhant und Quinquaud[2]) beim Hund von 5,0 g verfütterten Natriumsalzes 67%, von 4,0 g nach intravenöser Injektion 62%.

Auch daß Glykokoll sich von den Aminosäuren am ehesten der Verbrennung entzieht, geht schon aus den alten Beobachtungen von Salkowski[3]), sowie aus den vergleichenden Untersuchungen der letzten Jahre hervor. So wies Stolte[4]) bei einem Hunde von 3 kg, allerdings nach intravenöser Einspritzung von 5,06 g, im Harn der nächsten zehn Stunden 1,016 nach. (Indirekte Methode.)

Experimenteller Nachweis.

Die Versuche wurden am Kaninchen angestellt, das Formyl-d-l-Leucin wurde auch beim Hunde geprüft. Injektion als Natronsalz subcutan; die angegebenen Mengen beziehen sich auf die freie Säure.

Die Formylierung geschah genau nach E. Fischers Angaben aus käuflichem Glykokoll und Leucin (Kahlbaum), ebenso die Spaltung des racemischen Formyl-Leucins. Die angewandten Präparate zeigten die von E. Fischer angegebenen Eigenschaften. Die formylierten Aminosäuren wurden aus dem mit H_2SO_4 ver-

---

[1]) C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 383, 1883. Welches Tier er benutzte, geht aus den Angaben nicht hervor.

[2]) Gréhant und Quinquaud, Compt. rend. acad. sciences 104, 437, zit. n. Maly 1887, 77.

[3]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 55ff., 1880. Er hat reichliche Glykokollmengen als Kupfersalz dargestellt.

[4]) Stolte, Zeitschr. f. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 21, 1904. Ob das in letzter Zeit häufig im Harn nachgewiesene Glykokoll wirklich von vornherein frei im Urin vorkommt, ist noch nicht entschieden.

setzten, nicht eingedampften Urin durch Äther im großen Extraktionsapparat gewonnen; sie schieden sich bei dem freiwilligen Verdampfen des Äthers krystallinisch aus.

Die freien Aminosäuren wurden nach der Erschöpfung mit Äther, d. h. nach der vollständigen Extraktion der formylierten Produkte mit Naphthylisocyanat isoliert. Nur nach Eingabe von Formylglykokoll fand sich die entsprechende Aminosäure. Daß das gefundene freie Glykokoll erst im Harn durch dessen Alkalinität oder durch die zugesetzte Schwefelsäure abgespalten worden sei, ist nicht anzunehmen; denn dann hätte eine Spaltung auch in dem Harn mit Formylleucin stattfinden müssen, der genau ebenso behandelt worden war. In den Leucinversuchen fand sich aber nur Formylleucin, und keine freie Aminosäure (weder Leucin noch Glykokoll) im Harn.

Die Ameisensäure wurde nur nach Formylglykokollinjektion bestimmt. Sie wurde aus einem Teil des frischen mit H_2SO_4 versetzten Urins abdestilliert, nach Neutralisation und Eindampfen mit gesättigter Sublimatlösung mehrere Stunden gekocht, das Kalomel gewogen. Kontrollversuche mit reinem ameisensauren Natron ergaben 97% der angewandten Substanz.

Versuch 1. Formylglykokoll, Smp. 150—151° (soll 151—152°). Kaninchen (2,0 kg) erhält an zwei Tagen hintereinander 7,0 g; Urin (bei Grünfutter) 1400 ccm. Zwei Drittel davon ohne Eindampfen angesäuert, im Ätherextraktionsapparat extrahiert, geben als Ätherrückstand einen Sirup mit spärlichen Krystallen, der sich im Vakuumexsiccator über KOH fast ohne Rückstand verflüchtigt. (Ameisensäure! — kein Formylglykokoll.) 70 ccm Harn werden mit 20 ccm 20prozentigen H_2SO_4 unter Ersatz des Wassers 16 Stunden destilliert, bis keine Säure mehr überging. Das Destillat wird neutralisiert usw. Erhalten 0,751 Hg_2Cl_2 = 0,074 Ameisensäure. In 1400 Urin 1,48 g. — Der saure Rückstand neutralisiert, dann nach Neuberg und Manasse[1]) mit Naphthylisocyanat behandelt. Die Naphthylhydantoinsäure ins Barytsalz verwandelt. Ba 21,6% (bei 22,0%). Erhalten 0,18 Barytsalz entsprechend 55 mg Glykokoll. Im ganzen Harn also 1,1 Glykokoll.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 2359, 1905; diese Zeitschr. **5**, 456. 1907.

Formylleucin.

Das benutzte Präparat hatte den richtigen Smp. 139—141° bei den optischen Komponenten, 114—115° bei dem Racemkörper. Die Drehung beträgt nach E. Fischer +(18,8—19,2) resp. —18,4 in 10 prozentiger alkoholischer Lösung.

		Injiziert	Erhalten	Smp.	N	Spez. Drehung
1. d-Formylleucin	Kaninch.	4,0	3,6	138—139	—	+18,5
2. d-Formylleucin	„	3,5	3,2	140°	8,5	—
3. l-Formylleucin	„	1,5	0,1	139°	8,72	—
4. l-Formylleucin	„	3,1	0,6	135°	—	—
5. d-l-Formylleucin	„	4,0	1,8 d[1]) 0,4 l			+18,7[1])
6. d-l-Formylleucin	Hund	3,5	2,0[2])	—		+19,0[2])

Bei Behandlung der mit Äther erschöpften Urine (Versuch 3 und 4) mit Naphthylisocyanat werden nur unwägbare Mengen erhalten, ähnlich wie beim normalen Harn.

---

[1]) Die 2,2 g Formylleucin wurden durch Umkrystallisieren in drei Fraktionen und eine Mutterlauge zerlegt.

			Smp.					
Fraktion	1	0,87	140.	Drehung	= + 18,7°	entsprechend	100 %	d-Formylleucin
„	2	0,38	135.	„	= + 17,3°	„	94 %	„ + 6 % l-Formylleucin
„	3	0;45	120.	„	= + 7,1°	„	69 %	d-Formylleucin + 31 % l-Formylleucin
Mutterlauge	4	0,50 2,20			= ± 0	„	50 %	d-Formylleucin + 50 % l-Formylleucin

d-Formylleuc. = (1,00 · 0,87) + (0,94 · 0,38) + (0,69 · 0,45) + 0,50 · 0,50) = 1,79 d-Formylleuc.
l-Formylleucin = 0,41.

[2]) Nach dem Umkrystallisieren wird reines d-Formylleucin vom Smp. 141° und $[\alpha]_D = + 19,0°$ erhalten.

Bildung von Isoserin aus α-β-Dibrompropionsäure.[1])

Von

C. Neuberg und E. Ascher.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Vor einiger Zeit haben C. Neuberg und P. Mayer[2]) über zwei neue Bildungsweisen des Isoserins berichtet. Bei der Darstellung größerer Mengen von α-β-Diaminopropionsäure haben wir eine neue Art der Entstehung beobachtet. Isoserin bildet sich nämlich bei der Umsetzung von α-β-Diaminopropionsäure mit Ammoniak. Der Teil der Reaktion, der diesen Verlauf nimmt, ist allem Anschein nach früheren Autoren entgangen; im Endeffekt läßt sich die Umsetzung durch folgende Gleichung wiedergeben:

$$CH_2Br - CHBr - COOH + NH_4 \cdot OH = 2\,HBr + CH_2 \cdot NH_2 - CH \cdot OH - COOH.$$

Zur Darstellung von α-β-Diaminopropionsäure wurden α-β-Dibrompropionsäure mit Ammoniak und Ammoniumcarbonat nach der Vorschrift von O. Klebs[3]) mit der von Neuberg und Silbermann[4]) angegebenen Modifikation behandelt. Neben Bromammonium entsteht als Hauptprodukt α-β-Diaminopropionsäure.

Nach Entfernung des Halogens sowie Ammoniaks (mittels Bleicarbonat) hinterbleibt als stark alkalisch reagierender Sirup das Gemisch von freier Diaminopropionsäure mit ihrem Carbonat

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **1**, 382, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. **3**, 116, 1907.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **19**, 330, 1894.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **37**, 342, 1904.

resp. Carbamat[1]), das wie bei der Mehrzahl der bekannten Diaminomonocarbonsäuren nicht krystallisiert. Nach mehrtägigem Stehen begannen sich in dem Sirup Krystalle abzuscheiden, und als nach einiger Zeit sich ihre Menge nicht weiter vermehrte, wurde der Sirup mit wenig kaltem Wasser verdünnt und die Krystalle durch Absaugen isoliert. Nach Umlösen aus heißem Wasser und gleichzeitigem Kochen mit etwas Knochenkohle erhält man die Substanz in rein weißen Krystallen; sie steht in keiner Beziehung zur Diaminopropionsäure, reagiert weder in wässeriger Lösung alkalisch, noch wird sie in verdünnter Lösung durch Phosphorwolframsäure gefällt. Sie löst Kupfercarbonat mit tiefblauer Farbe, und das entstandene Salz, das prächtig krystallisiert, verriet die Natur der fraglichen Substanz; es hat die charakteristische Zusammensetzung und die Eigenschaften des Isoserinkupfers; die Analyse der reinen Verbindung ergab gleichfalls die Gegenwart der α-Oxy-β-aminopropionsäure.

Die Entstehung einer Oxyaminosäure bei der Reaktion der entsprechenden Dibromverbindung mit Ammoniak ist zunächst auffallend, doch nicht ohne Analogie, da der ganz entsprechende Fall bei dem nächst höheren Homologen des Isoserins, dem Methylisoserin, vor kurzem von C. Neuberg und M. Federer[2]) beobachtet ist. Wie die genannten Autoren ausgeführt haben, kann man für die Entstehung dieser Verbindung aus der α-β-Dibrombuttersäure (I) ein intermediäres Auftreten von Imidobuttersäure (II) annehmen, die dann durch Wasseran-

---

[1]) Die Fähigkeit der α-β-Diaminopropionsäure, sich mit CO_2 zu verbinden, haben wir in einer früheren Untersuchung (diese Zeitschr. 1, 380, 1906) über die optisch aktive Form leider nicht beachtet. Inzwischen haben E. Fischer und W. A. Jacobs (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 1057, 1907), welche die optisch aktiven Komponenten der α-β-Diaminopropionsäure auf anderem Wege dargestellt haben, gezeigt, daß gerade CO_2 das Drehungsvermögen der freien Verbindung in erheblichem Maße beeinflußt, es nämlich umkehrt. Nach der Natur des damals angewandten Isolierungsverfahrens (es wurde CO_2 in die barytalkalische Lösung der Diaminopropionsäure eingeleitet!) haben wir zweifelsohne ein gebundene CO_2 enthaltendes und infolgedessen mit abweichenden optischen Eigenschaften ausgestattetes Produkt in Händen gehabt. Wir werden deshalb die Darstellung der aktiven α-β-Diaminopropionsäure aus dem Camphersulfonat und die ihrer Derivate wiederholen.

[2]) Diese Zeitschr. 1, 282, 1906.

lagerung in Methylisoserin [α-Oxy-β-aminobuttersäure] (III) übergeht:

$$\begin{array}{ccccc} \text{I.} & & \text{II.} & & \text{III.} \\ CH_3 & & CH_3 & & CH_3 \\ | & & | & & | \\ CH \cdot Br & & CH\diagdown & & CH \cdot NH_2 \\ | & \longrightarrow & | \quad > NH & \longrightarrow & | \\ CH \cdot Br & & CH\diagup & & CH \cdot OH \\ | & & | & & | \\ COOH & & COOH & & COOH \end{array}$$

Ganz entsprechend kann man die Entstehung von Isoserin (VI) aus α-β-Dibrompropionsäure (IV) unter Annahme einer intermediären Bildung von Imidopropionsäure (V) deuten; es ist jedoch auch ein vorübergehendes Auftreten von Epiglycidsäure (VII) denkbar:

$$\begin{array}{cccc} \text{IV.} & \text{V.} & \text{VI.} & \text{VII.} \\ CH_2Br & CH_2\diagdown & CH_2 \cdot NH_2 & CH_2\diagdown \\ | & | \quad > NH & | & | \quad > O \\ CHBr & CH\diagup & CH \cdot OH & CH\diagup \\ | & | & | & | \\ COOH & COOH & COOH & COOH \end{array}$$

Diese Entstehungsweise von **Isoserin** zeigt wieder, daß die Bildung dieser Substanz bei vielen Umsetzungen in der Dreikohlenstoffreihe besonders leicht vor sich geht.

---

40 g α-β-Dibrompropionsäure und 66 g Ammoniumcarbonat wurden mit der sechsfachen Menge Ammoniak von 25% sechs Stunden im Autoklaven auf 120° erhitzt. Die erkaltete Lösung wurde filtriert, von flüchtigen Ammonverbindungen durch Eindampfen befreit, nochmals filtriert und zur Entfernung des Broms mit Bleicarbonat unter Einleiten von Wasserdampf erwärmt. Nach beendigter Austreibung des Ammoniaks wurde die erkaltete Lösung filtriert, mit Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit und bei möglichst niedriger Temperatur eingeengt. In dem zurückbleibenden Sirup, der zum großen Teil aus α-β-Diaminopropionsäure und deren CO_2-Additionsprodukten bestand, begann alsbald die Abscheidung glitzernder Krystalle. Als nach ungefähr zwei Wochen deren Menge nicht mehr zunahm, wurden sie nach Zusatz von ein wenig eiskaltem Wasser zu dem Sirup auf der Nutsche abgesaugt und mit verdünntem

Alkohol nachgewaschen. Nach Krystallisation aus heißem Wasser und Entfärbung mit Knochenkohle schied sich das Isoserin in derben Krystallen ab.

Die Analyse bestätigte die Zusammensetzung:

$$C_3H_7O_3N,$$

0,1990 g ergaben nach Kjeldahl 13,07% N

Berechnet:	Gefunden:
N = 13,38%	N = 13,07%.

Zur Unterscheidung von dem gleich zusammengesetzten und sehr ähnlichen Serin diente die Überführung in das charakteristische Kupfersalz von der Formel: $C_3H_5O_3NCu + 3\,H_2O$. 0,1488 g (im Trockenschrank bei 150° getrocknet) ergaben 0,0532 g CuO.

Berechnet:	Gefunden:
Cu = 28,63%	Cu = 28,60%,

0,1991 g ergaben nach Kjeldahl 6,18% N.

Berechnet:	Gefunden:
N = 6,33%	N = 6,18%.

Die Ausbeute an diesem Produkt betrug immerhin fast 10%, so daß es eigentlich wundernehmen muß, daß es vordem übersehen worden ist; es ist dies wohl so zu erklären, daß in fast allen früheren Fällen die α-β-Diaminopropionsäure nicht auf den freien Zustand, sondern auf das Bromhydrat verarbeitet wurde. Dann krystallisiert dieses zuerst, und ihm ist das Isoserin nur zum kleinen Teile beigemischt, zum größeren bleibt es in der Mutterlauge.

Berichtigung

zu der Mitteilung von M. Tswett. Diesen Band, Seite 373—378.

S. 377, 1. Zeile von unten lies: Komponente statt Komponenten.
S. 378, 7. Zeile von oben lies: Phyllotaonine statt Phylloxanthine.

Autorenverzeichnis.

Spamersche Buchdruckerei in Leipzig.



